

**DIE ENTWICKLUNG DER OPTISCHEN GANGLIEN
BEI DROSOPHILA MELANOGASTER**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Fakultät für Biologie
der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.

vorgelegt von
Alois Hofbauer
aus Eggenfelden

1979

**DIE ENTWICKLUNG DER OPTISCHEN GANGLIEN
BEI DROSOPHILA MELANOGASTER**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Fakultät für Biologie
der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.



vorgelegt von
Alois Hofbauer
aus Eggenfelden

1979

Dekan: Prof. Dr. K.-H. Hahlbrock
Leiter der Arbeit: Prof. Dr. J.A. Campos-Ortega
Referent: Prof. Dr. J.A. Campos-Ortega
Koreferent:

Tag der Verkündigung des Prüfungsergebnisses



Herr Prof. Dr. José A. Campos-Ortega hat den Anstoß zu dieser Arbeit gegeben, sie während ihrer Entstehungszeit betreut und mir in vielfacher Weise großzügige Unterstützung gewährt. Ihm möchte ich dafür besonders danken.

Danken möchte ich auch allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Campos-Ortega, die mich durch ihre Hilfsbereitschaft und ihre Anregungen unterstützt haben.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543110_0030

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
1.1. Thematischer Hintergrund und Fragestellung	1
1.2. Das visuelle System der adulten Fliege	3
1.3. Vorbemerkungen zur Entwicklung des Nervensystems bei <u>Drosophila</u>	9
1.4. Übersicht über bisherige Arbeiten zur Entwicklung der optischen Ganglien	11
2. MATERIAL UND METHODEN	16
2.1. Versuchstiere und Aufzuchtbedingungen	16
2.2. Histologische Techniken	17
2.3. ³ H-Thymidin-Autoradiographie	19
2.4. Zellzählungen	21
2.5. Behandlung mit Röntgenstrahlen	22
3. ERGEBNISSE	23
3.1. Form und Anordnung der optischen Anlagen und Ganglien während ihrer Entwicklung	23
3.1.1. Der larvale Nerv des optischen Stiels	24
3.1.2. Die optischen Anlagen der frisch geschlüpften Larve	26
3.1.3. Die Entwicklung der optischen Anlagen in den ersten beiden Larvenstadien	27
3.1.4. Die Anatomie der optischen Anlagen und Ganglien im dritten Larvenstadium und nach der Pupariumbildung	29
3.1.4.1. Der Bereich der äußeren optischen Anlage	34
3.1.4.2. Der Bereich der inneren optischen Anlage	37
3.1.4.3. Morphologische Veränderungen im Zusammenhang mit der Zellproliferation	39

3.1.4.4.	Morphologische Veränderungen im Zusammenhang mit der Differenzierung der Ganglien	41
3.2.	Die Zellproliferation in den optischen Anlagen und Ganglien	44
3.2.1.	Das Proliferationsmuster der optischen Anlagen in den ersten beiden Larvenstadien	44
3.2.2.	Das Proliferationsmuster während der Zeit der Ganglienzellbildung	45
3.2.2.1.	Autoradiographische Darstellung des Proliferationsmusters nach einem ³ H-Thymidinpuls <u>in vitro</u>	47
3.2.2.1.1.	Das Proliferationsmuster der äußeren optischen Anlage	48
3.2.2.1.2.	Das Proliferationsmuster der inneren optischen Anlage	56
3.2.2.1.3.	Zellproliferation im Bereich der optischen Ganglien außerhalb der optischen Anlagen	58
3.2.2.2.	³ H-Thymidinaufnahme über längere Zeiträume	58
3.2.2.3.	Markierungsverteilung im larvalen Gehirn nach kurzfristigem ³ H-Thymidineinbau und anschließender Überlebenszeit	61
3.2.3.	Quantitative Beschreibung der Zellproliferation	64
3.2.4.	Zelltod während der Entwicklung der optischen Ganglien	69
3.2.5.	Lokalisation pulsmarkierter Zellen in Puppe und Imago	74
3.2.5.1.	Markierungsmuster im pupalen Gehirn nach einem ³ H-Thymidinpuls zur Zeit der Zellproliferation	76
3.2.5.2.	Die Lage der Markierungsbanden im visuellen System der Imago	81
3.3.	Die Differenzierung der Faserzonen der optischen Ganglien	86
3.3.1.	Die Organisation der Retinaaxone beim Auswachsen aus der Augenheimaginalscheibe	87
3.3.2.	Die Differenzierung der Lamina	89
3.3.3.	Die Differenzierung der Medulla	96

3.3.4.	Die Differenzierung von Lobula und Lobula plate	101
3.4.	Ergebnisse aus Experimenten mit der Mutante <u>sine oculis</u>	102
3.4.1.	Die Entwicklung der optischen Ganglien bei homozygoten <u>sine oculis</u> -Tieren	102
3.4.2.	Die Wirkung von undifferenzierten Bereichen des Komplexauges auf die Entwicklung der optischen Ganglien	108
4.	DISKUSSION	110
4.1.	Methodenkritik	110
4.1.1.	³ H-Thymidin-Autoradiographie	111
4.1.2.	Zellzählungen	113
4.2.	Zur Anordnung und Identifizierung der optischen Anlagen und Ganglien	116
4.2.1.	Die optischen Anlagen	116
4.2.2.	Die Zuordnung von optischen Anlagen, Ganglienzellen und Ganglien	117
4.3.	Das Teilungsmuster von Neuroblasten und Gangliennutterzellen	122
4.3.1.	Die Proliferation der Neuroblasten	122
4.3.2.	Die Entstehung der Ganglienzellen aus den Neuroblasten	123
4.3.3.	Zusammenhang zwischen Teilungsmuster und Zelldifferenzierung	129
4.4.	Die zeitliche Reihenfolge bei der Differenzierung der optischen Ganglien	130
4.4.1.	Wachstumsrichtung und zeitliche Differenzierungsfolge der Ganglien	130
4.4.2.	Die zeitliche Wachstumsfolge innerhalb einzelner Faserbündel	136
4.5.	Der Einfluß der Retina auf die Entwicklung der optischen Ganglien	140
4.5.1.	Der Einfluß der Retina auf die Morphologie der adulten optischen Ganglien	140
4.5.2.	Der Einfluß der Retina auf die frühe Entwicklung der optischen Ganglien	142

5. ZUSAMMENFASSUNG 147

6. LITERATUR 149

1. EINLEITUNG

Diese Arbeit beschreibt die Normalentwicklung der optischen Ganglien bei Drosophila melanogaster. Es handelt sich dabei um eine fast ausschließlich deskriptive Arbeit, experimentelle Aspekte im Sinne von Eingriffen in den Entwicklungsablauf und der Analyse ihrer Auswirkungen spielen nur eine untergeordnete Rolle. Es liegt also eine Untersuchung vor, wie sie mit ähnlicher Fragestellung und vergleichbarem methodischen Ansatz schon zum Ende des 19. Jahrhunderts an verschiedenen Insekten durchgeführt wurden. Es erscheint deshalb angebracht, einleitend den thematischen Hintergrund zu erläutern, der eine solche Untersuchung nötig erscheinen ließ. Im weiteren Verlauf der Einleitung werden umrißartig die Morphologie der adulten optischen Ganglien der Fliege und einige grundlegende Informationen über die Entwicklung des zentralen Nervensystems dargestellt, soweit es für das Verständnis der Ergebnisse dieser Arbeit notwendig erschien. Schließlich wird abschließend ein Überblick über die wichtigsten bisherigen Veröffentlichungen gegeben, die zum Verständnis der Entwicklung der optischen Ganglien bei Drosophila beitragen.

1.1. Thematischer Hintergrund und Fragestellung

Die allgemeine Thematik, vor deren Hintergrund diese Arbeit gesehen werden sollte, ist die Frage nach der Musterbildung im zentralen Nervensystem. Der Ansatz, mit dem dieser Frage nachgegangen werden soll, ist ein entwicklungsgenetischer, also der Versuch, durch die Anwendung genetischer Methoden einen besseren Einblick in den Ablauf und die Regulation der normalen Entwicklung zu ermöglichen.

Es gibt einige Voraussetzungen, die für einen solchen Ansatz notwendig sind. Einmal muß das gewählte Untersuchungsobjekt einen möglichst weitgehenden Einsatz genetischer Me-

thoden zulassen; es muß sich um einen Organismus handeln, dessen Genetik bis zu einem hohen Grad erforscht ist. Weiter ist es notwendig, daß die adulte anatomische Struktur des Organs, das untersucht werden soll, möglichst gut bekannt ist. Und schließlich besteht eine weitere Voraussetzung in der möglichst umfassenden Kenntnis der Histogenese und Morphogenese im normalen Entwicklungsablauf.

Am Beispiel der Musterbildung bei der Entwicklung des Komplexauges von Drosophila kann verdeutlicht werden, wie ein solcher entwicklungsgenetischer Ansatz verstanden werden kann. Das Komplexauge besteht aus einer großen Anzahl von identischen Untereinheiten. Dadurch ist es möglich, den anatomischen Aufbau und das histologische Muster des adulten Organs bis auf das Niveau der einzelnen Zelle genau zu beschreiben. Zudem bietet Drosophila melanogaster als bevorzugtes Untersuchungsobjekt der klassischen Genetik besonders gute Voraussetzungen für die Anwendung genetischer Methoden. Es stehen eine Reihe von Mutanten zur Verfügung, die die Morphologie, Entwicklung und Funktion des Komplexauges in einer spezifischen Weise beeinflussen. So war es möglich, durch die Verwendung solcher Mutanten und die Analyse von Mosaiktieren, bei denen nur einzelne Zellen bzw. deren Nachkommen den mutanten Phänotyp zeigen, Einblicke in die Mechanismen der Musterbildung des Auges von Drosophila zu erhalten (Ready et al., 1976; Hofbauer u. Campos-Ortega, 1976; Campos-Ortega u. Hofbauer, 1977; Campos-Ortega et al., 1978, 1979).

Für eine vergleichbare Untersuchung im zentralen Nervensystem sind die Voraussetzungen in einem weit geringeren Maße gegeben. Zwar ist die Anatomie der optischen Ganglien beim adulten Tier, die ähnlich wie das Komplexauge aus repetitiven Untereinheiten aufgebaut sind, vor allem aus Untersuchungen an nahe verwandten Dipterenarten zumindest in manchen Bereichen außerordentlich gut bekannt (vgl. Strausfeld, 1976 mit ausführlichen Literaturverweisen),

doch fehlen bisher Mutanten, die in ihrer spezifischen Wirkung und in ihrem eindeutigen, histologisch erkennbaren Phänotyp den Augenmutanten gleichzustellen wären. Doch sollte gerade bei Drosophila die Möglichkeit bestehen, daß solche Mutanten gefunden werden können. Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, daß bisher kaum umfassende Beschreibungen der Entwicklung der optischen Ganglien bei Drosophila vorliegen. Die meisten Daten stammen aus älteren Arbeiten und sind zudem in der Regel nicht aus Untersuchungen an Drosophila, sondern an anderen Insekten gewonnen.

Diese letztgenannte Lücke auszufüllen ist das Ziel dieser Arbeit. Sie soll eine möglichst vollständige Beschreibung des Entwicklungsablaufs der optischen Ganglien bei Drosophila vom Beginn der Larvalentwicklung bis hin zu einem Differenzierungsstadium liefern, in dem die Anordnung und Verknüpfung der optischen Ganglien der Situation beim adulten Tier entspricht. Dabei sollen quantitative Aspekte mit eingeschlossen werden. Das Hauptaugenmerk liegt auf dem Proliferationsgeschehen, das zur Bildung der Nervenzellen führt, auf dem Zusammenhang zwischen der Entstehung der Nervenzellen und ihrer Zuordnung zu den einzelnen Ganglien und auf der Koordination der Ganglien während ihrer Entwicklung. Zusätzlich dazu soll ein erster Schritt in Richtung einer entwicklungs-genetischen Analyse durch die Untersuchung der Mutante sine oculis versucht werden. Dabei handelt es sich jedoch nur um qualitative Fragen und die Experimente tragen eher vorläufigen Charakter. Eine feinstrukturelle Analyse der Neuropildifferenzierung, so z.B. die Entstehung der synaptischen Strukturen, wird in dieser Arbeit nicht unternommen.

1.2. Das visuelle System der adulten Fliege

Das adulte visuelle System von Drosophila unterscheidet sich kaum von dem nahe verwandter Dipteren wie z.B. Musca oder Calliphora (Kankel et al., 1979). Die anatomische Beschrei-

bung, die hier gegeben wird, bezieht deshalb Ergebnisse, die nicht an Drosophila gewonnen wurden, mit ein.

Das visuelle System von Drosophila besteht aus der Retina des Komplexauges und den optischen Ganglien¹, der Lamina, der Medulla und dem Lobula-Komplex, der seinerseits aus der Lobula und der Lobula plate besteht. Zusammenfassende Darstellungen des visuellen Systems finden sich bei Cajal u. Sánchez (1915), Braitenberg u. Strausfeld (1973) und Strausfeld (1976). Darstellungen, die sich ausdrücklich auf Drosophila beziehen, bieten Power (1943b) und Kankel et al. (1979).

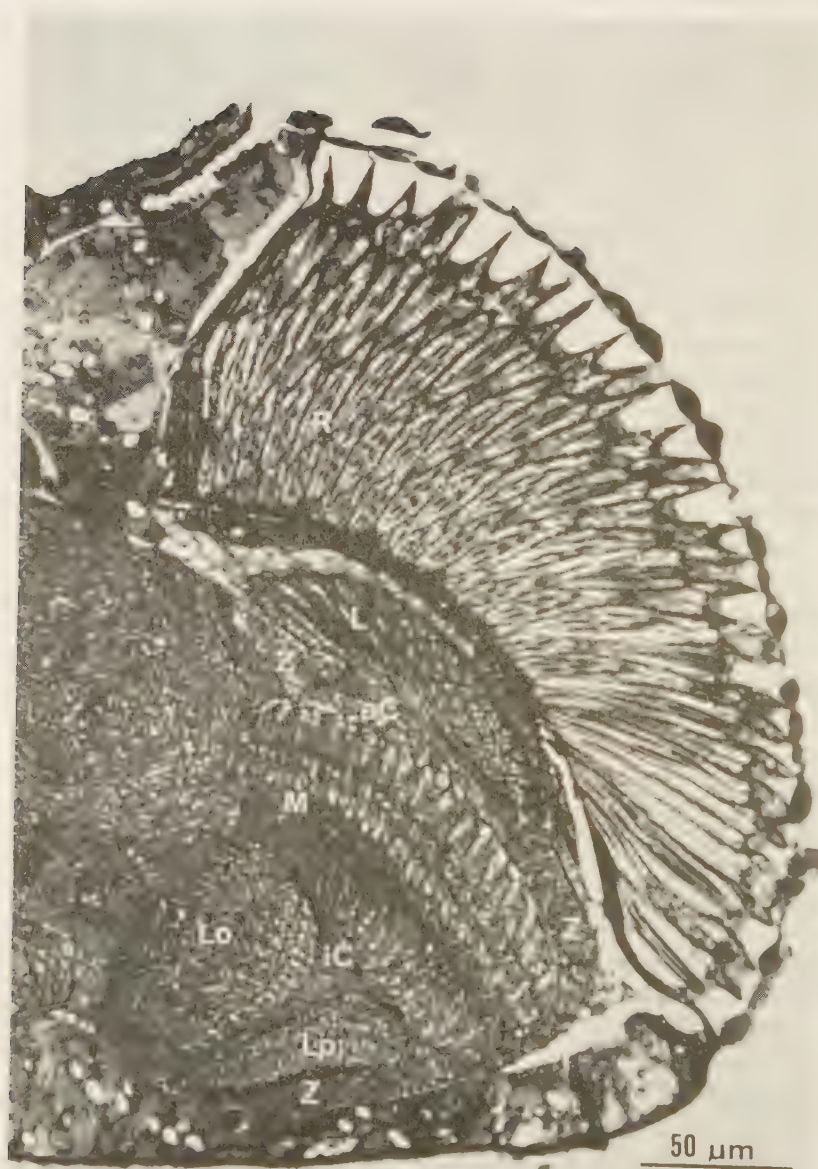
Das Komplexauge ist aus gleichen Untereinheiten aufgebaut, den Ommatidien, von denen jedes acht Lichtsinneszellen (R1-R8) enthält. Die Sinneszellen besitzen je ein eigenes Rhabdomer. Diese sind nicht miteinander verschmolzen; es handelt sich also um ein offenes Rhabdom. Drei Typen von Sinneszellen sind zu unterscheiden, R1-6, R7 und R8, wobei die Rhabdomere der Zellen R7 und R8 übereinander im Zentrum eines jeden Ommatidiums angeordnet sind, während die der Zellen R1-6 in einem charakteristischen Muster randständig angeordnet sind. Die drei Typen von Rezeptorzellen unterscheiden sich voneinander hinsichtlich ihrer Morphologie,

1) Die Bezeichnung der Ganglien des visuellen Systems als "optische Ganglien" ist ähnlich wie die Verwendung des Begriffes "optisch" in Benennungen wie "optische Anlagen", "optische Cartridges" u.s.w. sprachlich etwas unglücklich gewählt. Da diese Begriffe jedoch sowohl im deutschen wie im englischen Sprachgebrauch allgemein verwendet werden, werden sie auch hier beibehalten. Die Benennung der einzelnen Ganglien ist besonders im älteren Schrifttum recht unterschiedlich. Viele Autoren geben jedoch zur Erläuterung die Benennung von Berger (1878) an, der die Lamina als zur Retina gehörig auffaßt und die Zellkörperschicht der Lamina dementsprechend als "Körnerschicht" der Retina und die Neuropilzone als die "Molekularschicht" der Retina bezeichnet. Das Neuropil der Medulla und des Lobula-Komplexes entspricht dem "äußeren" und "inneren Marklager", denen die Zellkörperschichten als "Rindenbeleg" zugeordnet sind.

ihrer spektralen Empfindlichkeit und hinsichtlich der Projektion ihrer Axone.

Das der Retina unmittelbar nachgeschaltete Ganglion ist die Lamina. Ihre den Ommatidien der Retina entsprechenden Untereinheiten werden als Cartridges bezeichnet. In ihnen endigen die Axone der Rezeptorzellen R1-6, und zwar in einer Weise, daß die Axone aus einem Ommatidium nach einem festen Muster in sechs benachbarten Cartridges endigen, daß also jede Cartridge jeweils nur ein Axon aus ein und demselben Ommatidium enthält (Braitenberg 1967). Durch dieses Verschaltungsmuster werden Rezeptorzellen mit der gleichen Ausrichtung der optischen Achse ihrer Rhabdomere in einer Cartridge zusammengefaßt (neuronal Superposition, Kirschfeld, 1967). Den größten Anteil neben den Axonen der Zellen R1-6 haben an der Bildung der Cartridges die Monopolarzellen, von denen jeder Cartridge fünf histologisch unterscheidbare Zellen entsprechen (L1-5). Ihre Zellkörper sind in einer Schicht zwischen der Retina und dem Neuropil der Lamina angeordnet. Sie stellen die wichtigsten postsynaptischen Elemente der Retinaaxone R1-6 dar und projizieren in die Medulla. Außer den Retinaaxonen und den Monopolarzellen sind am Aufbau der Cartridges noch die Amakrinzellen der Lamina, deren Zellkörper unmittelbar proximal des Laminaneuropils liegen, und mehrere zentrifugale Elemente beteiligt, deren Zellkörper im Bereich der Medulla liegen und deren Ausläufer bis in die Cartridges der Lamina reichen.

Das zweite Verschaltungszentrum nach der Retina ist die Medulla. Auch das Medullaneuropil läßt einen Aufbau aus sich wiederholenden Untereinheiten, den Säulen der Medulla, erkennen. Jede Medullasäule ist mit einer Cartridge der Lamina verbunden. Die Verbindung ist so angelegt, daß innerhalb jeder Horizontalreihe von Elementen jeweils die Cartridges am Vorderrand der Lamina mit den Säulen am Hinterrand der Medulla verbunden sind und entsprechend die Cartridges der hinteren Lamina in die Säulen des vorderen Medullabereiches



projizieren. Die Faserkreuzung, die so zwischen der Lamina und der Medulla besteht, wird als das äußere Chiasma bezeichnet. Eine Kreuzung zwischen ventralen und dorsalen Komponenten besteht nicht.

Die Säulen der Medulla enthalten wesentlich mehr Elemente als die Cartridges und sind entsprechend komplexer gebaut. Die Zellkörper der Neurone, die an ihrem Aufbau beteiligt sind, befinden sich zum Überwiegenden Teil zwischen dem Neuropil von Lamina und Medulla und sind um das äußere Chiasma herum angeordnet. Die Haupteingänge in die Säulen der Medulla bestehen in den Endigungen der Rezeptorzellen R7 und R8 aus der Retina und der Monopolarzellen der Lamina. Dazu kommen zahlreiche zentrifugale Eingänge von Elementen, die aus dem Bereich des Lobula-Komplexes in die Medulla projizieren.

Die Säulen der Medulla projizieren in den Lobula-Komplex, der bei Drosophila aus zwei getrennten Ganglien besteht, der Lobula, die anterior liegt, und der posterior angeordneten Lobula plate. Während Lamina und Medulla, abgesehen

Abb. 1: Horizontalschnitt durch das visuelle System einer Imago von Drosophila melanogaster. An die Retina schließen sich die optischen Ganglien, die Lamina, Medulla und der Lobula-Komplex mit Lobula und Lobula plate an. Zwischen Lamina und Medulla befindet sich die Faserkreuzung des äußeren Chiasmas, zwischen Medulla, Lobula und Lobula plate sind die Fasern des inneren Chiasmas sichtbar. Die Zellkörper der Monopolarzellen sind als heller Streifen zwischen der Retina und dem Laminaneuropil sichtbar. Die Zellkörperschicht um das äußere Chiasma zwischen den Neuropilstrukturen von Lamina und Medulla ist der Medulla zugeordnet. Der entsprechende Bereich der Lobula plate liegt unmittelbar caudal zur zugehörigen Neuropilstruktur. Die Zellkörper, die der Lobula zuzuordnen sind, liegen weiter ventral und sind auf dem Schnitt nicht sichtbar.
aC äußeres Chiasma; iC inneres Chiasma; L, Lo, Lp, M Neuropilstrukturen von Lamina, Lobula, Lobula plate und Medulla; R Retina des Komplexauges; Z Zellkörperschichten.

von der Inversion zwischen vorne und hinten, parallel zueinander angeordnet sind, stehen die beiden Ganglien des Lobula-Komplexes senkrecht zu den beiden erstgenannten Ganglien. Sie erstrecken sich in medio-lateraler Richtung. Die anterioren Säulen der Medulla sind mit den medialen Teilen von Lobula und Lobula plate verbunden, die posterioren entsprechend mit den lateralen Teilen. Dadurch, daß die Säulen der Medulla jeweils mit den einander unmittelbar gegenüberliegenden Bereichen von Lobula und Lobula plate verbunden sind, entsteht zwischen Medulla und Lobula-Komplex ein weiteres Chiasma, das als inneres Chiasma bezeichnet wird. Dadurch, daß gleichzeitig drei Ganglien miteinander verbunden werden, ist das innere Chiasma unübersichtlicher und komplexer angeordnet als das äußere Chiasma. Eine ausführliche Beschreibung des Faserverlaufes im inneren Chiasma findet sich bei Braitenberg (1970).

Im Gegensatz zu Lamina und Medulla findet die topologisch exakte Anordnung der Projektion aus der Medulla in die Ganglien des Lobula-Komplexes keine Entsprechung in einer lichtmikroskopisch erkennbaren Aufteilung in Untereinheiten, die mit den Säulen der Medulla oder den Cartridges der Lamina vergleichbar wären.

Mit jeder Verschaltungsebene des Sehsystems der Fliege gewinnt der Anteil von tangentialen Elementen, die eine größere Anzahl von Untereinheiten miteinander verbinden, zunehmend an Bedeutung. Die Ommatidien der Retina erhalten weder zentrifugale Eingänge noch sind sie durch horizontale Elemente miteinander verbunden. In der Lamina sind beide Arten von Verschaltung vorhanden, sie spielen beim Aufbau der Lamina jedoch eine eher untergeordnete Rolle. In der Medulla dagegen ist ihr Gewicht wesentlich höher einzuschätzen. Dieses Ganglion enthält eine größere Anzahl von Neuronen, die Gruppen oder Reihen von Säulen gleichzeitig innervieren. Auf die zahlreichen zentrifugalen Eingänge der Medulla aus dem Lobula-Komplex wurde bereits hin-

gewiesen. Durch die Fasern des Cucatti'schen Bündels ist die Medulla über den Tractus opticus posterior direkt mit der Medulla der contralateralen Seite verbunden. In den Ganglien des Lobula-Komplexes schließlich scheinen die übergeordneten Elemente das Übergewicht gegenüber den periodischen, einer Untereinheit zugeordneten Elementen zu besitzen, was auch in der histologischen Komplexität der Neuropilzonen zum Ausdruck kommt. Sowohl Lobula als auch Lobula plate sind durch mehrere Faserstränge mit dem nichtoptischen zentralen Nervensystem der Fliege und mit den contralateralen Sehzentren verbunden.

Innerhalb des Gehirns gibt es weitere Zentren, die überwiegend visuelle Informationen verarbeiten. Sie werden nicht zu den optischen Ganglien gezählt und unterscheiden sich von ihnen auch hinsichtlich der ontologischen Entwicklung. Sie werden in dieser Arbeit nicht berücksichtigt.

1.3. Vorbemerkungen zur Entwicklung des Nervensystems bei Drosophila

Die Entwicklung von Drosophila melanogaster vom Ei bis zur fertigen Imago dauert bei einer Temperatur von 25°C etwa 10 Tage. Die Embryonalentwicklung nimmt davon etwa 21 Std. in Anspruch. Nach dem Schlüpfen aus dem Ei häutet sich die Larve nach ca. 24 Std. und ein weiteres Mal nach ca. 48 Std.. Etwa zwei Tage später folgt die Pupariumbildung, an die sich ca. 12 Std. später die eigentliche Verpuppung anschließt. Durch das Schlüpfen aus dem Ei, die beiden Häutungen und die Pupariumbildung werden die drei Larvenstadien definiert.

Eine zusammenfassende Darstellung der ontogenetischen Entwicklung des Nervensystems bei Drosophila wurde von Hertweck (1931) und von Kankel et al. (1979) gegeben.

Das Zentralnervensystem der jungen Larve besteht aus den beiden Oberschlundganglien (supraoesophagalen Ganglien),

dem Unterschlundganglion (infracoesophagealen Ganglion), den drei Thorakalganglien und den acht Abdominalganglien. Die beiden Oberschlundganglien besitzen die Form von Kugeln und werden als die Gehirnhemisphären bezeichnet. Sie liegen zu beiden Seiten des Oesophagus und sind oberhalb des Oesophagus durch eine Kommissur miteinander verbunden. Eine weitere Kommissur verbindet jedes der Oberschlundganglien mit dem unpaaren Unterschlundganglion (vgl. Abb. 7b). Zusammen bilden die Kommissuren und die Ganglien einen Ring, durch den der Oesophagus hindurchtritt. Das Unterschlundganglion, die Thorakalganglien und die Abdominalganglien sind so miteinander verschmolzen, daß sie von außen wie ein Ganglion erscheinen und deshalb auch als Ventralganglion bezeichnet werden.

Die Ganglien sind so aufgebaut, daß sich die Neuropilzonen im Innern befinden und die Zellkörper der Neurone das Neuropil einhüllen. Die differenzierten Nervenzellen des Larvengehirns werden als larvale Ganglienzellen bezeichnet. Zusätzlich zu diesen Zellen enthält das larvale Gehirn noch undifferenzierte Zellen, die meist im peripheren Bereich der Ganglien liegen und die isoliert oder in Gruppen angeordnet sein können. Sie werden als Neuroblasten bezeichnet und unterscheiden sich von den übrigen Zellen des Gehirns durch ihre besondere Größe. Die Neuroblasten, die mit der Bildung der optischen Ganglien im Zusammenhang stehen, sind innerhalb der Gehirnhemisphären zu epithelartigen Strukturen zusammengefaßt. Sie wurden bei einer ganzen Reihe von Insekten beschrieben und werden in der Literatur als "Bildungs-herde" (Bauer, 1904), "Neuroblastenbezirke" (Pflugfelder, 1937), "imaginal epithelia" (El Shatoury, 1956), "optic lobe anlagen" (Nordlander u. Edwards, 1969b), "optic anlagen" (Meinertzhagen, 1973) oder als "proliferation centers" (White u. Kankel, 1978) bezeichnet. In dieser Arbeit wird der Begriff der "optischen Anlagen" verwendet. Die Neuroblasten differenzieren sich im Laufe der Entwick-

lung nicht zu Neuronen, sondern lassen durch andauernde Teilungsaktivität Nervenzellen entstehen.¹ Im typischen Fall gehen dabei aus einem Neuroblasten durch eine inäquale Teilung wiederum ein großer Neuroblast und eine kleinere Zelle hervor, die als Gangliennutterzelle bezeichnet wird. Diese Zelle teilt sich zumindest ein weiteres Mal; aus dieser nun äqualen Teilung gehen Ganglienzellen hervor, die sich anschließend differenzieren. Bauer (1904) hat diesen Teilungsmodus bei Culex beobachtet; für Drosophila wurde er von Poulson (1965) in der Embryonalentwicklung und von White u. Kankel (1978) in der Larvalentwicklung bestätigt gefunden. Alle diese Beobachtungen beziehen sich jedoch nicht auf die Neuroblasten der optischen Anlagen. Bei den Ganglienzellen, die während der Larvalentwicklung aus der Teilungsaktivität der Neuroblasten hervorgehen, handelt es sich um Zellen, die am Aufbau von für die Imago spezifischen Gehirnteilen beteiligt sind. Sie werden deshalb als imaginale Ganglienzellen bezeichnet.

1.4. Übersicht über bisherige Arbeiten zur Entwicklung der optischen Ganglien

Ein Vergleich der veröffentlichten Literatur zeigt, daß die Entwicklung der optischen Ganglien bei allen Insekten, insbesondere bei allen holometabolen Insekten nach dem gleichen Grundplan abläuft. Ganz besonders aufschlußreich sind dabei natürlich für die Verhältnisse bei Drosophila Ergebnisse, die sich auf Arten aus der Gruppe der Cyclorhapha (Musciformia), einer Unterordnung der Dipteren, beziehen,

1) Die Verwendung des Begriffs "Neuroblast" ist in der Literatur nicht ganz einheitlich. So ist z.B. bei Sánchez (1919a) und bei LoPresti et al. (1974) unter "Neuroblast" eine noch nicht differenzierte Ganglienzelle zu verstehen. Diese Definition entspricht dem sonst in der Vertebraten-Neurobiologie üblichen Sprachgebrauch.

zu der neben den Drosophilidae (Essigfliegen) u.a. die Familien der Syrphidae (Schwebfliegen), Muscidae (Echte Fliegen), Calliphoridae (Schmeißfliegen) und Sarcophagidae (Fleischfliegen) gehören. Diese Übersicht beschränkt sich im wesentlichen auf Arbeiten über holometabole Insekten. In einigen Fällen, in denen dies nötig und aufschlußreich erscheint, wird auf Arbeiten an hemimetabolen Insekten verwiesen.

Als erster hat wohl Viallanes die Entwicklung der optischen Ganglien bei verschiedenen Insekten mit histologischen Methoden untersucht und ausführlich beschrieben. Im Zusammenhang mit dieser Arbeit sind dabei vor allem seine Untersuchungen an den Dipteren Musca, Eristalis und Stratiomys (Viallanes, 1882, 1885) von Bedeutung, in denen die Anordnung der Ganglien im larvalen Gehirn und die Zugehörigkeit der Ganglienzellen zu bestimmten Neuropilstrukturen gezeigt wird. Bauer (1904) hat die Entwicklung des Nervensystems u.a. bei Vespa crabro, Apis mellifica und Culex pipiens untersucht. Er erkannte die Rolle der Neuroblasten und beschrieb die Teilungsfolge, durch die aus ihnen die Ganglienzellen hervorgehen. Er sah auch richtig, daß es sich bei den optischen Anlagen um Aggregate von Neuroblasten handelt, aus denen die Ganglienzellen der optischen Ganglien entstehen. Von Sánchez (1918, 1919a,b) wurde vornehmlich die Differenzierung der Ganglienzellen und die Herstellung von Faserverbindungen zwischen den verschiedenen Teilen des visuellen Systems am Beispiel von Pieris dargestellt. Eine vergleichende Darstellung der Entwicklung des visuellen Systems nicht nur von Insekten, sondern allgemein der Articulaten gibt Hanström (1925). Eine ausführliche histologische Beschreibung der Entwicklung der optischen Ganglien des Taumelkäfers Gyrinus natator hat Bott (1928) veröffentlicht; Grabenhorst (1930) bearbeitete in einer ähnlichen Weise die optischen Ganglien bei den Männchen verschiedener Ephemeridengattungen (Eintagsfliegen).

Ähnliche Untersuchungen liegen für Ephestia kühniella (Mehlmotte) vor von Umbach (1934) und Schrader (1938). Pflugfelder beschäftigte sich ausführlich mit der Entwicklung der optischen Ganglien bei verschiedenen Insekten im Rahmen seiner vergleichenden Darstellung des Nervensystems und der Sinnesorgane der Rhynchota (Schnabelkerfe) (Pflugfelder, 1936/37) und in einer eigenen Arbeit über die Entwicklung der optischen Ganglien bei Culex pipiens (Pflugfelder, 1937). In diesen Arbeiten wird die Wachstumsrichtung der einzelnen Ganglien herausgestellt, die zur Bildung der Chiasmata führt. Panov (1960) hat in einer vergleichenden Arbeit die Entwicklung der optischen Ganglien bei Apis, Pieris, Aeschna, Tettigonia und Siphonurus beschrieben. Eine wesentliche Erweiterung in methodischer Hinsicht und daraus resultierende Erkenntnisse über das Proliferationsmuster bei der Bildung der optischen Ganglien brachten die Arbeiten von Nordlander u. Edwards (1969a,b), die mit autoradiographischen Techniken die Entwicklung des Nervensystems beim Monarchfalter Danaus plexippus beschrieben. Vorwiegend mit der Differenzierung der Lamina auf zellulärer Ebene beschäftigt sich die Arbeit von Trujillo-Cenóz u. Melamed (1973). Ihre Ergebnisse stammen aus Untersuchungen an den Fliegen Phaenicia sericata und Sarcophaga bullata. Eine umfassende Darstellung der Entwicklung des visuellen Systems bei Insekten mit besonderer Ausrichtung auf das System der Fliegen bietet Meinertzhausen (1973, 1975, 1978)

Nur eine geringe Anzahl von Veröffentlichungen beschäftigt sich mit den optischen Ganglien von Drosophila melanogaster. Die erste Beschreibung der optischen Anlagen im larvalen Gehirn von Drosophila findet sich in der Arbeit von Hertweck (1931) über die Entwicklung und Metamorphose des Nervensystems. Vorwiegend quantitativ-volumetrische Aspekte der Entwicklung der optischen Ganglien bei Drosophila, sowohl für den Wildtyp als auch für einige Mutanten mit reduzierten Augen sind in der Untersuchung von Hinke (1961) behandelt.

Eine Beschreibung des Entwicklungsablaufes gibt El Shatoury (1956). In einer neuen Arbeit schließlich untersuchen White u. Kankel (1978) unter Anwendung von ^3H -Thymin-Autoradiographie die Entwicklung des Nervensystems bei Drosophila, wobei die Entwicklung der optischen Ganglien besonderen Raum einnimmt.

Die Auswirkungen einer verkleinerten oder fehlenden Retina auf die Entwicklung der optischen Ganglien ist bei Drosophila bisher nur anhand der Beobachtung von Mutanten beschrieben worden. Richards u. Furrow (1925) und Power (1943a) haben bei der Imago die optischen Ganglien der Mutante eyeless untersucht. Eine Zusammenstellung einer Vielzahl von Mutanten, die die Differenzierung des Komplexauges beeinflussen, findet sich bei Meyerowitz u. Kankel (1978). Aufschluß über den Entwicklungsablauf bei Mutanten mit verkleinerter Retina liefert die schon erwähnte Arbeit von Hinke (1961).

Implantationsexperimente, bei denen isolierte Gehirnanlagen in einen Wirt implantiert wurden, um eine Analyse der Entwicklung der optischen Ganglien unter Ausschluß eines Einflusses durch die Retina zu ermöglichen, wurden bisher nicht an Drosophila, wohl aber an einigen anderen Insekten durchgeführt. Kopeč (1922) hat solche Experimente bei Lymantria dispar (Schwammspinner) beschrieben, Schrader (1938) hat ähnliche Versuche an Ephestia unternommen. Pflugfelder (1947) hat zu verschiedenen Entwicklungsstadien Gehirnanlagen von Carausius morosus (Stabheuschrecke) implantiert, um Aufschluß über die Entwicklungspotenzen der Anlagen zu gewinnen.

Chirurgische Eingriffe, bei denen die Retina, bzw. Teile oder Anlagen der Retina entfernt wurden, um die Auswirkung auf die Entwicklung der optischen Ganglien zu prüfen, sind ebenfalls für Drosophila nicht beschrieben. Schoeller (1964) hat ähnliche Experimente an Calliphora durchgeführt, dabei allerdings nur die Ganglien der Imago untersucht. Detaillierte Experimente, die die Auswirkung von chirurgischen

Eingriffen in den Entwicklungsprozeß der Retina auf die Ausbildung der optischen Ganglien erkennen lassen, wurden bisher nur an Hemimetabolen durchgeführt. Mouze (1974, 1978) hat solche Experimente an Aeschna durchgeführt, wobei er in der zweiten Arbeit zusätzlich autoradiographische Techniken verwendete, und Anderson (1978a,b) hat ähnliche Versuche an Schistocerca, einer Wanderheuschrecke, unternommen und die daraus resultierenden Effekte auf die Entwicklung der optischen Ganglien beschrieben.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Versuchstiere und Aufzuchtbedingungen

Für die Untersuchung der Normalentwicklung wurden die Wildtypstämme Oregon R und Berlin K verwendet. Der weitaus größere Teil der Daten stammt dabei vom Stamm Oregon R, insbesondere alle quantitativen Angaben wurden ausschließlich aus der Untersuchung dieses Stammes gewonnen. Daneben wurde die Mutante sine oculis (so) verwendet. Die Mutante kartiert auf dem zweiten Chromosom (57.1). Bei den Imagines der Mutante sind die Komplexaugen stark verkleinert oder fehlen völlig (Lindsley u. Grell, 1972). Bei dem verwendeten Laborstamm besaßen 80-90% der Tiere keine Komplexaugen. Während der Entwicklung führt der Genotyp so/so zu Zelltod in der Augenimaginalscheibe im dritten Larvenstadium, zu einem Zeitpunkt, zu dem sich die Rezeptorzellen der Retina zu differenzieren beginnen (Hofbauer u. Campos-Ortega, 1976; Ransom, 1979). Der Zelltod ist dabei mit dem so/so-Genotyp der Zellen in der Augenimaginalscheibe gekoppelt. Das geht aus Transplantationsexperimenten hervor, bei denen so/so-Imaginalscheiben auch dann Zelltod zeigten, wenn sie sich in Wildtyp-Larven entwickelten (Lindsley u. Grell, 1972).

Die Tiere wurden auf dem üblichen Standardmedium aus gekochtem Maisschrot, Sojamehl, Agar, Hefeextrakt, Rübensirup und Malzextrakt gezüchtet. Die Zuchtgefäße befanden sich in einem Raum, dessen Temperatur gleichbleibend $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ betrug und dessen relative Luftfeuchtigkeit bei ca. 55% gehalten wurde. Der Raum wurde in einem Hell-Dunkel-Rhythmus von 12 Std. beleuchtet.

Für alle die Experimente, bei deren Auswertung die genaue Kenntnis des Entwicklungsstadiums von Bedeutung war, vor allem für die quantitativen Auswertungen, wurde besonderer Wert auf eine möglichst synchrone Entwicklung der Tiere

einer Kultur gelegt. Dazu wurden einige Tage alte, reichlich gefütterte Fliegen zur Eiablage in leere Zuchtgefäße gebracht und diese auf Petrischalen gestülpt, die mit Agar (1%) ausgegossen worden waren. Zur Stimulierung der Eiablage wurde der Agar mit 1% Eisessig und 0.5% Äthylalkohol versetzt und mit etwas frischer, mit Zucker angerührter Bäckerhefe bestrichen. Nach etwa 1 Std. wurden die Fliegen auf eine zweite Petrischale gebracht und für 1 Std. darauf belassen. Diese zweite Schale wurde anschließend mit den darauf abgelegten Eiern bei 25°C inkubiert. Die erste Schale diente lediglich dazu, die Fliegen zur Ablage älterer, im Uterus zurückgehaltener Eier zu veranlassen und wurde nicht weiter verwendet. 21 Std. nach Beginn der Eiablage wurden von der inkubierten Schale alle bis dahin geschlüpften Larven abgesammelt und die Schale für weitere 30 Min. nach 25°C gebracht. Nach dieser Zeit wurden die innerhalb der halben Stunde neu geschlüpften Larven mit einem Pinsel abgesammelt und in ein Zuchtgefäß mit frischem Medium gesetzt, jeweils etwa 100 Larven in ein Gefäß, und unter den oben angegebenen Bedingungen weitergezüchtet. Die Häutungen der Larven und die Pupariumbildung wurden protokolliert. In der Regel fanden die Häutungen 45 Std. und 70 Std. nach der Eiablage statt und fiel die Pupariumbildung in den Zeitraum von 105 - 115 Std. nach der Eiablage. Trotz der gleichbleibenden Bedingungen entwickelten sich nicht alle Kulturen gleich schnell. Für die quantitativen Untersuchungen wurden nur Kulturen berücksichtigt, deren Entwicklungsgeschwindigkeit der oben angegebenen entsprach.

2.2. Histologische Techniken

Für die histologische Aufarbeitung des larvalen Gehirns wurde das ganze Gehirn der Larve zusammen mit den daran hängenden Augen-Antennenscheiben und den Mundhaken in Ringerlösung herauspräpariert und sofort in eiskalte Fixierflüssigkeit überführt. Bei der Präparation des pupalen Ge-

hirns führte dieses Verfahren zur Beschädigung des Nervensystems. Deshalb wurde, nachdem die Puppe aus der Puppenhülle herausgelöst worden war, der gesamte Kopfabschnitt vorsichtig abgetrennt und in die Fixierflüssigkeit gebracht. Nach etwa 15 Min. wurden dann in der Fixierflüssigkeit weitere Teile des Kopfes abpräpariert, um ein schnelles Eindringen der Fixierlösung in das Gehirn zu gewährleisten. Im Falle der Imagines wurden die Tiere mit Äther betäubt, der Kopf abgetrennt und mit einer scharfen Rasierklinge in der Sagittalebene durchgeschnitten, um das Gehirn unmittelbar für die Fixierflüssigkeit zugänglich zu machen.

Zur Fixierung wurde folgende Lösung verwendet:

- 1 Teil OsO_4 , 4% in H_2O
- + 1 Teil Cacodylatpuffer, 0.2 M, pH 7.2
- + 2 Teile Glutaraldehyd, 4% in Cacodylatpuffer, 0.2 M, pH 7.2

Nach 30 Min. wurden die Objekte in Cacodylatpuffer gewaschen und für weitere 2 Std. in folgender Mischung nachfixiert:

- 1 Teil OsO_4 , 4% in H_2O
- + 1 Teil Cacodylatpuffer, 0.2 M, pH 7.2

Die gesamte Fixierung erfolgte auf Eis.

Nach der Fixierung wurden die Objekte mehrmals in eiskaltem Aqua dest. gewaschen und in 10 Min.-Schritten über eine Alkoholreihe von 50%, 70%, 80%, 90%, 96% und 2 x 100% Äthylalkohol entwässert. Im Anschluß an die Alkoholreihe wurden die Präparate für 2 x 20 Min. in Propylenoxid überführt.

Für die Einbettung wurde Durcupan ACM (Fluka) verwendet. Aus dem Propylenoxid wurden die Objekte über Nacht in eine Mischung aus Durcupan und Propylenoxid im Verhältnis 1 : 1 gebracht und anschließend für mehrere Stunden in reines Durcupan überführt. Die endgültige Einbettung erfolgte in flacheinbettungsformen aus Plastikmaterial. Die Polymerisation erfolgte bei Temperaturen zwischen 45 und 60°C.

Für die lichtmikroskopischen Untersuchungen wurden mit einem Ultramikrotom (Ultratome III, LKB) Schnitte von 2 μ m Dicke hergestellt und in Wassertropfen auf gelatinisierten Objektträgern aufgebracht. Die Schnitte wurden anschließend auf einer Heizplatte angetrocknet und gefärbt. Die Färbelösung enthielt folgende Bestandteile:

0.05% Methylenblau

0.05% Borax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$)

0.01% Toluidinblau

Die Lösung wurde vor dem Gebrauch durch ein Millipore-Filter filtriert und auf der Heizplatte bei ca. 80 °C auf die Objektträger mit den Schnitten geschichtet. Nach einigen Minuten, bevor die Färbelösung auf den Objektträgern eingetrocknet war, wurde die Lösung unter fließendem Wasser abgewaschen und die Schnitte wieder getrocknet. Zum Eindecken wurde Rhenohistol (Merck) oder DePeX (Serva) verwendet.

Für die Elektronenmikroskopie wurden mit dem Ultramikrotom graue Ultradünnschnitte angefertigt und auf Formvarfolien aufgezogen. Die Kontrastierung erfolgte durch Uranylacetat in 50% Methylalkohol und durch Bleicitrat nach der üblichen Standardmethode. Für die Untersuchung der Schnitte stand ein Philips Elektronenmikroskop EM 201 zur Verfügung.

2.3. ^3H -Thymidin-Autoradiographie

Zur autoradiographischen Bestimmung des Thymidineinbaus wurde ^3H -Thymidin mit einer Aktivität von 50 mCi/mMol (1 mCi/ml) verwendet. Das ^3H -Thymidin wurde in vitro angeboten, indem die präparierten Gehirne von Larven oder Puppen in Medium inkubiert wurden, das ^3H -Thymidin enthielt, durch Injektion des ^3H -Thymidins in Larven oder durch die Verfütterung an Larven.

Bei der in vitro-Methode wurden die Gehirnanlagen aus den Larven bzw. Puppen herauspräpariert und in einem Tropfen

von 0.2 ml Schneiders Drosophila Medium (revised) (GIBCO) bei 25°C inkubiert. Die Inkubationszeit betrug 30 Min. Anschließend an die Inkubation wurden die Gehirne kurz in Medium ohne Thymidinzusatz gewaschen und sofort fixiert.

Für die Injektionen von ³H-Thymidin wurden die Larven durch Äther betäubt, bis die Muskulatur der Tiere völlig erschlafft war, und die Flüssigkeit durch eine fein ausgezogene, scharf gebrochene Glaskapillare in das Abdomen injiziert. Bei dieser Methode war es nicht möglich, das im Einzelfall injizierte Volumen zu bestimmen. Aus Abschätzungen nach mehreren Injektionen ergab sich, daß durchschnittlich etwa 0.1 µl in eine Larve injiziert wurden. Wegen dieser Ungenauigkeiten wurden diese Experimente nur qualitativ ausgewertet und keine vergleichend quantitativen Folgerungen gezogen.

Das Verfüttern des ³H-Thymidins wurde benutzt, wenn die Aufnahme über längere Zeit hin erfolgen sollte, sowie als Kontrolle für die in vitro-Methode und für die Injektionsexperimente. Normales Standardmedium wurde durch Erhitzen verflüssigt und unter Rühren wieder auf 25°C abgekühlt. Durch das Rühren wurde das Medium am Wiedererstarren gehindert und konnte mit dem ³H-Thymidin gut vermischt werden. Die Temperatur von 25°C wurde durch ein Wasserbad konstant gehalten. Die Larven wurden in das Medium mit dem ³H-Thymidin gebracht und nach 1-10 Std. in Medium ohne ³H-Thymidin zur weiteren Entwicklung umgesetzt oder sofort für die Fixierung des Gehirns seziiert. Die Konzentration des ³H-Thymidins betrug 0.1 µl pro 1 ml Medium.

Die Fixierung, das Einbetten und das Schneiden der Präparate erfolgte nach den oben angegebenen Methoden. Die Schnitte wurden mit Photoemulsion bezogen, getrocknet, bei 4°C aufbewahrt und nach 2-10 Wochen entwickelt. Zwei verschiedene Emulsionen wurden verwendet: Ilford L4, verdünnt mit Wasser im Verhältnis 3 : 1 und Kodak NTB3, verdünnt mit Wasser im Verhältnis 1 : 1. Die Ilford-Emulsion lieferte

im Vergleich zur Kodak-Emulsion eine etwas schwächere, aber feinkörnigere und sehr gut lokalisierte Markierung. Ilford wurde deshalb für die in vitro-Experimente verwendet, bei denen von den Zellkernen viel radioaktives Thymidin aufgenommen wurde, während für die übrigen Experimente mit geringerem ^3H -Thymidineinbau die Emulsion von Kodak verwendet wurde. Die Entwicklung der Autoradiogramme erfolgte mit D19 (Kodak). Die Präparate wurden anschließend mit Methylenblau/Toluidinblau gefärbt (s.o.) und mit Rhenohistol (Merck) eingedeckt.

2.4. Zellzählungen

Die quantitativen Auswertungen basieren auf der Zählung der Zellkerne. Dazu wurden vollständige Schnittserien aus 2 μm dicken Schnitten angefertigt und die Schnitte anschließend im Maßstab 1 : 200 oder 1 : 80 photographiert. Auf den Abzügen wurden dann alle erkennbaren Kernfragmente gezählt. In den Larvenstadien I und II wurden dabei alle Schnitte berücksichtigt, in den späteren Stadien jeweils einer aus vier Schnitten. Da der Durchmesser der Zellkerne meist erheblich größer war als die Dicke der Schnitte, wurden die meisten Kerne mehrmals gezählt. Um aus den gezählten Kernfragmenten die tatsächliche Anzahl der Kerne zu erhalten, wurde nach folgender Formel korrigiert (Marrable, 1962):

$$N = \frac{T}{T + (D - 2k)} \times n$$

Dabei gilt:

N = die tatsächliche Anzahl der Kerne

n = die Anzahl der gezählten Fragmente

T = die Schnittdicke

D = der Durchmesser der Kerne

k = die Dicke der kleinsten noch sichtbaren Kernfragmente

2.5. Behandlung mit Röntgenstrahlen

Die Behandlung von heterozygoten so/+ -Larven hat zur Folge, daß sich bei einem Teil der Tiere einzelne Bereiche des Auges nicht differenzieren. Diese Bereiche innerhalb oder am Rand des Auges enthalten keine Ommatidien (Hofbauer u. Campos-Ortega, 1976).

Die heterozygoten Larven wurden im ersten oder zu Beginn des zweiten Larvenstadiums bestrahlt. Bei der Bestrahlung wurden folgende Parameter eingehalten: Spannung: 100 kV, Stromstärke: 15 mA, Ionendosis: 1000-1200 R.

3. ERGEBNISSE

An sich bietet sich für die Schilderung eines Entwicklungsablaufes ein Vorgehen in der zeitlichen Reihenfolge an. Im vorliegenden Fall jedoch hätte die strikte Einhaltung der zeitlichen Abfolge des Entwicklungsprozesses zu einer sehr unübersichtlichen Darstellung geführt, da bei der Entwicklung der optischen Ganglien einzelne Entwicklungsschritte, etwa Proliferation und Differenzierung der Ganglien, einander zeitlich weit überlappen. Aus diesem Grunde werden erst die Bestandteile der optischen Ganglien und ihre Anordnung im larvalen bzw. pupalen Gehirn beschrieben. Anschließend daran werden in je einem weiteren Abschnitt das Proliferationsmuster und einzelne Aspekte der Differenzierung der Ganglien näher erläutert. In einem abschließenden Abschnitt schließlich werden Ergebnisse vorgestellt, die sich aus Untersuchungen mit der Mutante sine oculis ergeben haben.

3.1. Form und Anordnung der optischen Anlagen und Ganglien während ihrer Entwicklung

Die Beschreibung der optischen Ganglien während ihrer Entwicklung wird hier in drei zeitlich aufeinanderfolgende Abschnitte gegliedert. Auf die Beschreibung der optischen Anlagen im larvalen Gehirn unmittelbar nach dem Schlüpfen aus dem Ei folgt die Entwicklung der Anlagen in den larvalen Stadien I und II. Das Ende des zweiten Larvenstadiums stellt insofern einen Einschnitt in der Entwicklung der optischen Ganglien dar, als zu diesem Zeitpunkt die ersten Ganglienzellen entstehen und somit die Bildung der eigentlichen Ganglien beginnt. Die Zeit der Pupariumbildung bildet keinen entsprechenden Einschnitt in der kontinuierlichen Entstehung und Differenzierung der Ganglien; das dritte Larvenstadium und die pupale Entwicklungsphase werden deshalb in einem Abschnitt zusammengefaßt. Den drei Ab-

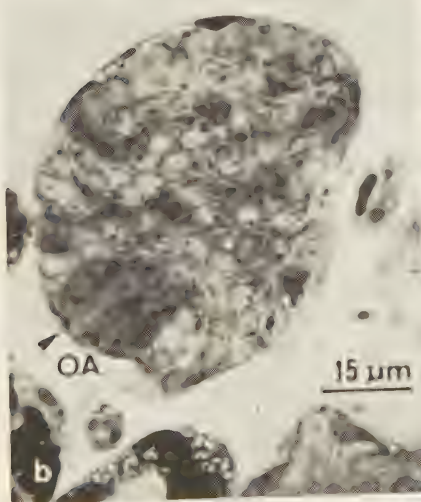
schnitten wird eine kurze Beschreibung des larvalen Nervs des optischen Stiels vorangestellt.

3.1.1. Der larvale Nerv des optischen Stiels

Der optische Stiel, der die Augenimaginalscheibe mit dem Gehirn der Larve verbindet, enthält bereits in den ersten beiden Larvenstadien, also zu einem Zeitpunkt, zu dem noch keine Axone der Rezeptorzellen des späteren Komplexauges existieren, ein Bündel von 10 - 20 Nervenfasern. Der Ausgangspunkt des Faserbündels wurde in dieser Arbeit nicht untersucht. Ergebnisse, die von Bolwig (1945/46) an Musca und von Roberts (1971) an Calliphora gewonnen wurden, lassen jedoch den Schluß zu, daß es sich bei den Fasern um die Axone von larvalen Lichtsinneszellen im Bereich der Mundhaken handelt.

Der larvale Nerv des optischen Stiels ist bereits bei der frischgeschlüpften Larve vorhanden (vgl. Abb. 2b). Er tritt im posterioren Bereich der Hemisphären von lateral her in das Gehirn ein und zieht durch die Zellkörperschicht in

Abb. 2a,c: Der larvale Nerv des optischen Stiels. Die beiden Abbildungen stammen aus einer Schnittserie durch das Gehirn und die Augenimaginalscheibe einer Larve gegen Ende des ersten Larvenstadiums. Der optische Stiel enthält zu diesem Zeitpunkt noch keine Rezeptorzellaxone der Retina. In Abb. 2a ist der Nerv in unmittelbarer Nähe der Eintrittsstelle in die Gehirnhemisphäre quer geschnitten. In Abb. 2c ist der größte Teil des optischen Stiels längs angeschnitten und zeigt die hellen Profile der Nervenfasern. Abb. 2b: Frontalschnitt durch den posterioren Bereich der Gehirnhemisphäre einer Larve unmittelbar nach dem Schlüpfen aus dem Ei. Die Zellen der optischen Anlagen sind als dunkel angefärbte Gruppe zu erkennen, durch die der längs angeschnittene larvale Nerv des optischen Stiels zieht. Das Neuropil der Hemisphäre liegt in einem mehr anterioren Bereich und ist in dem Schnitt nicht sichtbar. AI Augenimaginalscheibe; OS optischer Stiel; der Pfeilkopf in 2b weist auf den larvalen Nerv hin.



das zentral gelegene Neuropil der Hemisphären. In den Abb. 2a und 2c ist am Beispiel einer Larve des späten ersten Stadiums anhand eines elektronenmikroskopischen Präparats der Verlauf des Nerven von der Hemisphäre durch den optischen Stiel bis zur jungen Augenimaginalscheibe dargestellt. Der Nerv bleibt durch die weitere Larvalentwicklung bis in das Puppenstadium hinein erhalten. Zur Zeit der Retinadifferenzierung, wenn die Axone der retinalen Rezeptorzellen durch den optischen Stiel in das Gehirn der Larve einwachsen, befinden sich die Fasern des larvalen Nerven in unmittelbarer Nachbarschaft der Rezeptorzellaxone aus dem Äquatorbereich des hinteren Augenrandes. Sie sind durch ihren größeren Querschnitt und durch ihr weniger elektronendichtes Plasma deutlich von den Axonen der Rezeptorzellen zu unterscheiden und lassen sich im optischen Stiel, in der Lamina und im Medullabereich nachweisen (vgl. Abb. 23a, 25a, 25b). Im Lichtmikroskop fallen sie dabei durch ihre geringe Anfärbbarkeit durch Methylenblau/Toluidinblau auf. In der Pupalentwicklung konnte der Nerv noch 25 Std. nach der Pupariumbildung gefunden werden. In späteren Entwicklungsstadien war er nicht mehr zu identifizieren. Es wurden jedoch auch keine degenerierenden Fasern beobachtet.

3.1.2. Die optischen Anlagen der frisch geschlüpften Larve

Zu Beginn der Larvalentwicklung, wenn die junge Larve aus der Eihülle schlüpft, bestehen die Anlagen der späteren optischen Ganglien aus 30 - 40 Zellen. Aus diesen Zellen entwickeln sich im Laufe der Larval- und Pupalzeit die optischen Ganglien der Fliege.

Die Zellen sind in einer Gruppe im posterioren lateralen Bereich der Hemisphären um den larvalen Nerv des optischen Stiels herum angeordnet. Sie umhüllen den Nerv von seiner Eintrittsstelle in die Hemisphäre bis hin zu seiner Einmündung in das Neuropil des Oberschlundganglions. Die Zellgruppe wird also nach medial durch das Neuropil, nach la-

teral hin durch das Perineurium der Hemisphäre begrenzt. Die Anordnung der Zellen um den Nerv ist nicht ganz gleichmäßig; der Hauptteil der Zellen liegt rostral-ventral zum Nerv.

Von den übrigen Zellen des larvalen Gehirns unterscheiden sich die Zellen der optischen Anlagen zu Beginn des ersten Larvenstadiums durch ihre Größe und durch ihre Anfärbbarkeit. Sie sind etwas kleiner als die nichtoptischen Zellen, der Durchmesser ihrer Kerne beträgt etwa $3.5\text{ }\mu\text{m}$ im Vergleich zu $4 - 4.5\text{ }\mu\text{m}$ der übrigen Zellen. Im lichtmikroskopischen Bild fallen die Zellen der optischen Anlagen vor allem dadurch auf, daß sie durch Methylenblau/Toluidinblau stärker angefärbt werden als die sie umgebenden Zellen. Sie treten dadurch als dunkle Zellgruppe aus der Zellkörperschicht der larvalen Gehirnhemisphäre hervor (vgl. Abb. 2b).

3.1.3. Die Entwicklung der optischen Anlagen in den ersten beiden Larvenstadien

Während der ersten Hälfte des ersten Larvenstadiums entwickeln sich die optischen Anlagen aus der Zellgruppe um den larvalen Nerv zu zwei epithelialen Strukturen. Die weitere Entwicklung bis gegen Ende des zweiten Larvenstadiums besteht in einer zunehmenden Vergrößerung dieser Anlagen; zusätzliche Zelltypen oder Strukturen treten bis zu diesem Zeitpunkt nicht auf.

Die Entwicklung der optischen Anlagen in ihre für die gesamte spätere Larvalzeit typische epitheliale Form ist mit einer Veränderung der Morphologie der Zellen selber und mit einer Änderung ihrer Anordnung verbunden. Die anfangs runden, kleinen Zellkerne wachsen zu großen, ellipsoiden Kernen an, deren Durchmesser in der Längsachse bis zu $7\text{ }\mu\text{m}$ erreicht und in Richtung der kürzeren Achse ca. $4\text{ }\mu\text{m}$ beträgt. Die Zellen sind dichtgepackt und bilden eine Art zylindrisches Epithel, wobei die Längsachse der Kerne senk-

recht zur Fläche des Epithels steht. Da das Plasma der Zellen seine starke Anfärbbarkeit beibehält, entsteht im Querschnitt der Eindruck einer rindenartigen, homogen dunkel gefärbten Matrix, in die die großen, schwach angefärbten Zellkerne mit deutlich erkennbaren dunklen Nucleoli eingelagert sind (vgl. Abb. 3a, 7a).

Etwa ab der Mitte des ersten Larvenstadiums lassen sich zwei voneinander getrennte Teile der optischen Anlagen unterscheiden, die entsprechend ihrer Lage als die äußere und innere optische Anlage bezeichnet werden. Bei Bauer (1904) entsprechen dem die Bezeichnungen "erster" und "zweiter Bildungsherd". Beide Anlagen sind um den larvalen Nerv des optischen Stiels herum angeordnet. Die äußere optische Anlage nimmt dabei den lateralen Bereich ein und grenzt direkt an das Perineurium der Gehirnhemisphäre, die innere optische Anlage liegt medial zur äußeren Anlage und grenzt an das Neuropil der Hemisphäre. Bis gegen Ende des zweiten Larvenstadiums liegen beide Anlagen unmittelbar nebeneinander (vgl. Abb. 3a, 7a).

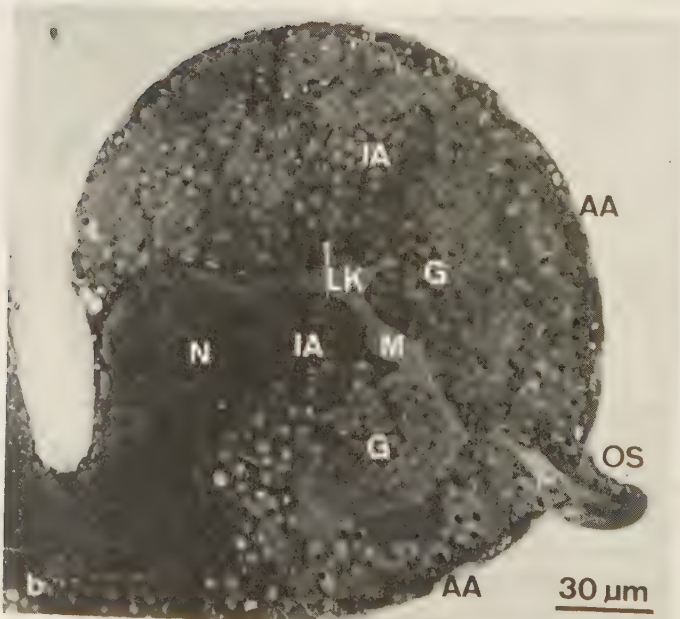
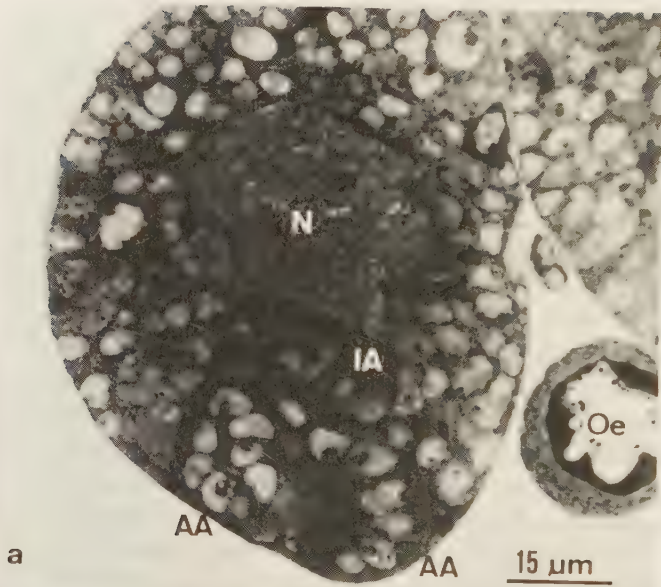
Die äußere optische Anlage ist im fortgeschrittenen ersten Larvenstadium spangenartig um den larvalen Nerv herum so angeordnet, daß sich die Enden der Anlage vom Nerv aus gesehen im dorso-caudalen Bereich berühren und leicht überlappen. Die Enden der Anlage verschmelzen jedoch zu keinem Zeitpunkt der Entwicklung miteinander, es entsteht also keine geschlossene ringförmige Struktur um den Nerv herum. Die innere Oberfläche des Epithels liegt im ersten Larvenstadium mehr oder minder direkt dem Nerv an (vgl. Abb. 3a), die langgestreckten Zellen des Epithels sind also mit ihrer Längsachse senkrecht zum Verlauf des Nerven angeordnet. Im Verlauf der weiteren Entwicklung nähert sich die äußere Oberfläche des Epithels jedoch mehr und mehr der Oberfläche der Gehirnhemisphäre an. Die äußere Anlage erhält dadurch zunehmend die Form einer flachen Kuppel, deren Außenfläche die Oberfläche der lateralen Hemisphäre bildet

(vgl. Abb. 7a). Im Zentrum der Kuppel tritt der larvale Nerv in die Hemisphäre ein. Von dieser Eintrittsstelle aus zieht eine Öffnung in der Anlage in dorso-caudaler Richtung bis zum Anlagenrand. Diese Öffnung stellt allerdings keine Lücke in der Anlage dar, sondern hat eher den Charakter einer Naht, an der sich die Ränder der Anlage berühren ohne miteinander zu verschmelzen.

Die Anordnung der inneren optischen Anlage gleicht im ersten Stadium der der äußeren Anlage. Auch sie legt sich spangenförmig um den larvalen Nerv, die Annäherung der Enden der Anlage im dorso-caudalen Bereich ist allerdings nicht so eng wie im Fall der äußeren Anlage. Die innere Anlage entspricht somit eher einer U-förmigen Struktur, deren Öffnung in dorso-caudale Richtung zeigt und deren innere Krümmung den larvalen Nerv unmittelbar vor seinem Eintritt in das zentrale Neuropil der Hemisphäre umschließt. Die Anlage behält ihre Lage und Form während der ersten beiden Stadien im wesentlichen bei. Allerdings wird im Lauf der Entwicklung eine zunehmende Asymmetrie der beiden Schenkel der U-Form sichtbar. Der ventrale Schenkel ist umfangreicher, reicht bis zur Oberfläche der Hemisphäre und besitzt eine zusätzliche Krümmung in dorsale Richtung. Der dorsale Schenkel verläuft vergleichsweise gerade und erreicht die Oberfläche der Hemisphäre nicht ganz.

3.1.4. Die Anatomie der optischen Anlagen und Ganglien im dritten Larvenstadium und nach der Pupariumbildung

Gegen Ende des zweiten Larvenstadiums werden im Bereich der optischen Anlagen Zellen sichtbar, die sich von den Neuroblasten deutlich unterscheiden. Sie liegen zwischen der inneren und der äußeren optischen Anlage. Ihre Zahl nimmt mit dem Beginn des dritten Larvenstadiums bis in das frühe Puppenstadium hinein stark zu. Dadurch entfernen sich innere und äußere Anlage im Lauf der Entwicklung immer weiter voneinander. Die äußere Anlage behält dabei ihre Lage an



der lateralen Außenfläche ebenso bei wie die innere Anlage, die weiterhin die Abgrenzung des optischen Teils der Hemisphäre zum restlichen Teil des Gehirns bildet (vgl. Abb. 3b). Diese Veränderungen sind mit einem starken Anwachsen des optischen Anteils der Hemisphäre verbunden. Gegen Ende des dritten Larvenstadiums wird annähernd die gesamte laterale Hälfte der Hemisphären von den optischen Anlagen und Ganglien eingenommen. Es entsteht so eine Halbkugel, deren Außenfläche von der äußeren Anlage gebildet wird und in deren "Bodenfläche" die U-förmige innere Anlage liegt. Der Innenraum der Halbkugel wird von den neu gebildeten Zellen, den imaginalen Ganglienzellen der entstehenden optischen Ganglien, und von den ersten Neuropilstrukturen der Ganglien ausgefüllt (vgl. Abb. 3b, 8a).

Bereits in der ersten Hälfte des dritten Larvenstadiums beginnen sich Ganglienzellen zu differenzieren. Sie bilden Nervenfasern, die sich an bestimmten Stellen zu Geflechten vereinigen. Durch ihre Lage, ihre Zuordnung zu bestimmten

Abb. 3a: Frontalschnitt durch eine Gehirnhemisphäre einer Larve gegen Ende des ersten Larvenstadiums. Die optischen Anlagen sind in innere und äußere Anlage getrennt und liegen unmittelbar aneinander. In der äußeren optischen Anlage ist die zentrale Öffnung erkennbar, durch die der larvale Nerv des optischen Stiels in die Gehirnhemisphäre eintritt. Der Nerv selber ist nicht angeschnitten. Die U-förmige innere Anlage ist im Bereich der vorderen Krümmung angeschnitten.

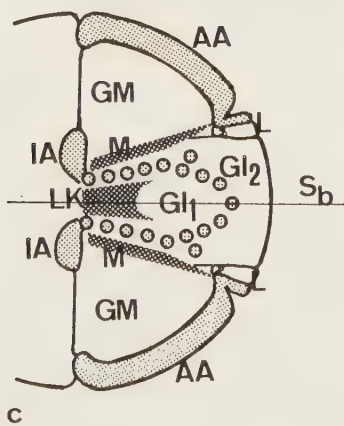
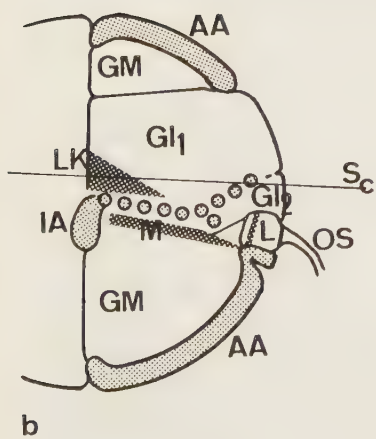
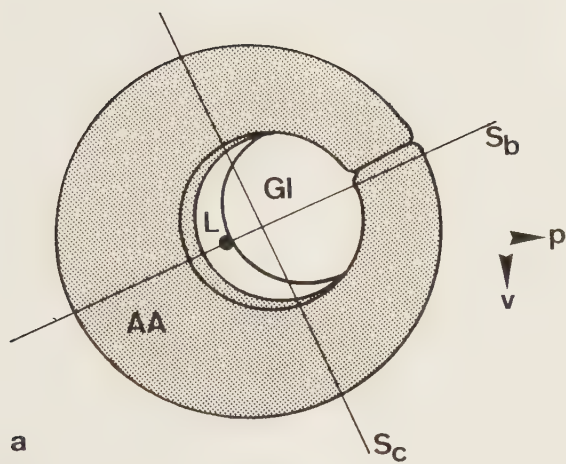
Abb. 3b: Frontalschnitt durch eine Gehirnhemisphäre einer Larve Mitte des dritten Larvenstadiums. Äußere und innere optische Anlage sind durch neu gebildete Ganglienzellen voneinander getrennt. Die äußere Anlage ist so angeschnitten, daß die Eintrittsstelle des optischen Stiels erkennbar ist. Die U-förmige innere Anlage ist mehr caudal getroffen als in Abb. 3a, so daß die beiden Schenkel getrennt angeschnitten sind. Im Zentrum des optischen Bereichs sind bereits Neuropilstrukturen der optischen Ganglien erkennbar.

AA äußere optische Anlage; G Ganglienzellen der optischen Ganglien; IA innere optische Anlage; LK Neuropil des Lobula-Complexes; M Neuropil der Medulla; N Neuropil der larvalen Gehirnhemisphäre; Oe Oesophagus; OS optischer Stiel.

Faserstrukturen lassen sich die neugebildeten Nervenzellen so bereits im larvalen Gehirn den späteren optischen Ganglien zuordnen. Dabei lassen sich zwei Populationen von Zellen unterscheiden, die den beiden optischen Anlagen entsprechen. Eine zentrale Gruppe von Zellen erstreckt sich zu Beginn des dritten Stadiums als säulenartige Struktur von zentral nach lateral, also in dieselbe Richtung wie der larvale Nerv, der unmittelbar anterior zu dieser Gruppe verläuft. Im weiteren Verlauf des Stadiums wächst diese Zellgruppe zu einem pfropfenartigen Gebilde heran, das den Raum zwischen dem Neuropil der Gehirnhemisphäre bis zum zentralen Bereich der Kuppel der äußeren optischen Anlage ausfüllt. Die Zellen bilden also innerhalb der Halbkugel des optischen Bereiches eine Art dicke Mittelsäule, die nicht genau im Zentrum angebracht, sondern etwas nach hinten verschoben ist, so daß der zentral gelegene larvale Nerv unmittelbar vor ihr zu liegen kommt. Diese Zellen stehen mit der inneren optischen Anlage in Zusammenhang.

Der verbleibende Raum innerhalb der Halbkugel des optischen

Abb. 4: Schematische Darstellung der Anordnung von Anlagen und Ganglien im larvalen Gehirn. Der Darstellung sind die Verhältnisse in der zweiten Hälfte des dritten Stadiums zugrundegelegt. Die optischen Anlagen sind durch helle Schattierung gekennzeichnet. a) Aufsicht von lateral auf die Oberfläche der Gehirnhemisphäre. Der Eintritt des larvalen Nerven des optischen Stiels in die Lamina ist durch einen schwarzen Punkt symbolisiert. b) und c) Schnittebenen durch den optischen Anteil einer Hemisphäre. Die Neuroblasten der inneren optischen Anlage, die außerhalb des epithelialen Verbandes liegen, sind durch schattierte Kreise dargestellt. AA äußere optische Anlage; GI Ganglienzellen, die aus der inneren optischen Anlage hervorgehen und mit den Neuroblasten der inneren Anlage außerhalb des epithelialen Verbandes den zentralen Zellpfropf in der Hemisphäre bilden; GI₁, GI₂ mediale und distale Zellgruppe aus der inneren Anlage, die durch Neuroblasten der Anlage voneinander getrennt werden; GM Ganglienzellen der Medulla; IA innere optische Anlage; L Neuropil und Ganglienzellen der Lamina; LK Neuropil des Lobula-Komplexes; M Neuropil der Medulla; OS optischer Stiel; p posterior; S_b, S_c Schnittrichtung in b) bzw. c); v ventral.



Bereiches wird von der zweiten Zellpopulation eingenommen, die der äußeren optischen Anlage zuzuordnen ist. Sie bildet eine ringförmige Struktur, die den zentral gelegenen Zellpfropf vollständig umschließt und nach medial hin breiter wird.

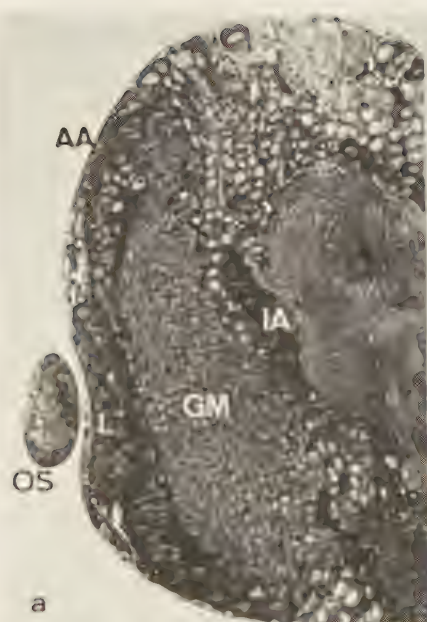
Die Anordnung der verschiedenen Strukturen und Zellpopulationen ist in Abb. 4 und Abb. 5 in einer schematischen Weise und anhand eines histologischen Beispiels dargestellt.

3.1.4.1. Der Bereich der äußeren optischen Anlage

Der äußeren optischen Anlage sind zwei Gruppen von Ganglienzellen zuzuordnen, eine große Gruppe von Zellen, die medial zur Anlage liegen und zur Oberfläche der Hemisphäre hin von der Anlage bedeckt werden und eine kleinere Population, die am lateralen Rand der Anlage angeordnet ist. Dieser laterale Rand der äußeren Anlage entsteht dadurch, daß sich die Eintrittsöffnung für den larvalen Nerv des optischen Stiels im Zusammenhang mit dem Wachstum der Hemisphäre im dritten Larvenstadium zu einer größeren Öffnung erweitert (vgl. Abb. 4a). Die Zellen der größeren, medialen Gruppe sind ausschließlich Zellen der Medulla, die Zellen der kleineren, lateralen Gruppe bilden die Lamina.

Die Zellen der Medulla sind ringförmig um die zentrale Zellgruppe der inneren Anlage angeordnet und schließen diese

Abb. 5: Frontalschnitte durch die Gehirnhemisphäre einer Larve der zweiten Hälfte des dritten Stadiums. Die Schnitte stammen von einer Schnittserie. Die Schnittrichtung liegt zwischen den Schnittebenen S₁ und S₂ in Abb. 4. Die Reihenfolge von a) nach d) entspricht der Richtung von anterior nach posterior. In d) ist der verlängerte, nach dorsal gekrümmte ventrale Schenkel der inneren optischen Anlage zu erkennen. Zur Anordnung der Ganglien vgl. Abb. 4. AA äußere optische Anlage; GI Ganglienzellen aus der inneren Anlage; GM Ganglienzellen der Medulla; IA innere optische Anlage; L Lamina; LK Neuropil des Lobula-Komplexes; M Neuropil der Medulla; OS optischer Stiel.



30 μ m



rundum ein. Die Axone der Medullaneurone ziehen zur Grenzfläche zwischen der Zellkörperschicht der Medulla und den Zellen der inneren Anlage im Zentrum des optischen Bereiches. An dieser Grenzfläche bildet sich ein Fasergeflecht, das mit fortschreitender Entwicklung allmählich dicker und differenzierter wird. Dieses Geflecht ist das erste Stadium in der Bildung des Medullaneuropils. Die Fläche des Fasergeflechtes wird nach medial durch die Krümmung der inneren optischen Anlage begrenzt, nach lateral berührt sie den lateralen Rand der äußeren optischen Anlage. Das sich entwickelnde Medullaneuropil hat also die Form einer gekrümmten Fläche, deren Krümmung der des anterioren Teils der inneren Anlage und der des lateralen Rands der äußeren Anlage entspricht. Im Gegensatz zur Zellkörperschicht der Medulla umschließt das Medullaneuropil den Zellpfropf der inneren Anlage nicht in Form eines Ringes. Vielmehr umgibt das Neuropil die zentrale Zellgruppe nur etwa zur Hälfte. Es entsteht so eine Art Rinne um den anterioren Bereich des Zellpfropfes aus der inneren Anlage. Genau in der Mitte dieser Rinne verläuft der larvale Nerv des optischen Stiels von lateral nach medial. Er wird vom Medullaneuropil eingeschlossen und teilt es in zwei symmetrische Hälften.

Etwa ab Mitte des dritten Larvenstadiums wird am lateralen Rand der äußeren optischen Anlage eine weitere Gruppe von Zellen sichtbar, die Zellen der entstehenden Lamina. Damit verbunden ist eine morphologische Veränderung des lateralen Randes der Anlage. Im vorderen Bereich entsteht nahe dem Rand der Anlage eine tiefe Furche, die einen schmalen, halbringförmigen Teil vom Rest der äußeren Anlage trennt (vgl. Abb. 9a). Aus diesem kleineren Teil der Anlage geht die Lamina hervor. Die Ganglienzellen der Lamina liegen in einer anfänglich sehr schmalen Zone unmittelbar neben diesem Teil der äußeren Anlage. Sie werden begrenzt nach anterior durch die Anlage, nach posterior durch den Zellpfropf aus der inneren Anlage, der in die laterale Öffnung der äußeren Anlage hineinragt, und nach medial durch den lateralen Rand

des Medullaneuropils. Ebenso wie das Medullaneuropil umschließt die Lamina nicht den gesamten Zellpfropf aus der inneren Anlage, sondern nur dessen anterioren Teil. Von lateral auf die Oberfläche gesehen erhält so die Lamina die Form einer Sichel, die nach posterior hin geöffnet ist und in ihrer Krümmung und Orientierung der Form des Medullaneuropils entspricht. Ebenso wird auch die Lamina durch den larvalen Nerv in zwei symmetrische Hälften geteilt. Der Nerv durchzieht die Lamina an ihrem posterioren Rand in der Mitte der Krümmung. An dieser Stelle tritt der Nerv aus dem optischen Stiel in die Hemisphäre ein. Zum Zeitpunkt der Laminabildung enthält der optische Stiel außer dem larvalen Nerv bereits Axone von Rezeptorzellen aus der Retina.

Das Neuropil der Lamina ist im larvalen Gehirn als feine Faserschicht sichtbar, die sowohl von lateral als auch medial von Laminazellen eingeschlossen wird. Die Orientierung der Fläche ist parallel zur Oberfläche der Hemisphäre und damit senkrecht zur Fläche des Medullaneuropils. Das Neuropil der Lamina erstreckt sich vom hinteren Rand der Lamina bis zur Anlage am vorderen Laminarand.

3.1.4.2. Der Bereich der inneren optischen Anlage

Im Gegensatz zu den Zellgruppen, die aus der äußeren Anlage hervorgehen, handelt es sich bei dem zentral gelegenen Zellpfropf, der aus der inneren Anlage hervorgeht, nicht um eine homogene Population von postmitotischen Zellen. Zu Beginn des dritten Larvenstadiums besteht dieser Zellpfropf nur aus Neuroblasten, die allerdings nicht die für die Anlagen sonst typische epitheliale Anordnung aufweisen. Im Verlauf des dritten Stadiums nimmt die Ausdehnung dieses Zellbereiches erheblich zu; er enthält nun außer Neuroblasten auch Ganglienzellen und Neuropilstrukturen.

Die Neuroblasten, in Abb. 4 durch schraffierte Kreise dargestellt, liegen zu diesem Zeitpunkt innerhalb einer Fläche,

die sich an die Innenseite des Medullaneuropils anlegt und sich von der Krümmung der inneren Anlage ausgehend nach lateral erstreckt. Im medialen Bereich schließt sich nach posterior an die Neuroblasten das Neuropil der entstehenden Lobula und Lobula plate an. Im lateralen Bereich sind die Neuroblasten von dort neugebildeten Ganglienzellen umgeben, die sie vollständig einhüllen, so daß sie an keiner Stelle die Außenfläche der Hemisphäre oder die Zellkörperschicht der Medulla erreichen. Der Hauptteil der Ganglienzellen liegt dabei posterior und medial zu der Neuroblastenschicht, in Abb. 4 als GI_1 bezeichnet. Diese Zellen stellen die Zellkörperschicht der Lobula plate dar. Ihre Nervenfasern sind allerdings auch am Aufbau des Lobula-Neuropils beteiligt. Unmittelbar angrenzend an den posterioren Rand der Lamina liegt eine weitere Gruppe von Ganglienzellen, in Abb. 4 als GI_2 bezeichnet. Ähnlich wie die Lamina sind auch diese Zellen in einem sichelförmigen Bereich angeordnet. Die Nervenfasern dieser Zellen bilden keine eigene, abgeschlossene Neuropilstruktur sondern treten mit dem Neuropil der Medulla in Verbindung. Es handelt sich dabei um eine Reihe von dicken Faserbündeln, die entsprechend der Anordnung der Zellen einen Halbkreis bilden und auf den lateralen Rand der Medulla zulaufen (vgl. Abb. 25c).

Eine weitere Gruppe von Ganglienzellen, die ebenfalls aus der inneren Anlage hervorgeht, liegt in der medialen Grenzfläche des optischen Anteils der Hemisphäre, außerhalb des zentralen Zellpfropfes aus der inneren Anlage. Diese Zellen stehen im Zusammenhang mit dem verlängerten, nach dorsal gekrümmten Schenkel der inneren Anlage. Die Axone dieser Zellen ziehen in Richtung der inneren U-Krümmung der inneren Anlage und sind dort an der Bildung des Lobula-Neuropils beteiligt.

3.1.4.3. Morphologische Veränderungen im Zusammenhang mit der Zellproliferation

Während der ersten Phase der Ganglienzellbildung, in der ersten Hälfte des dritten Stadiums, nimmt die Ausdehnung der optischen Anlagen weiterhin zu. In der zweiten Hälfte des dritten Stadiums überwiegt dann allmählich die Teilung von Neuroblasten in Ganglienzellen. Die Anlagen werden zunehmend kleiner und verschwinden etwa einen Tag nach der Pupariumbildung völlig. Damit ist die Phase der Ganglienzellbildung für die optischen Ganglien abgeschlossen.

Die äußere optische Anlage erreicht etwa 95 Std. nach der Eiablage, also etwa 15 Std. vor der Pupariumbildung, ihre größte Ausdehnung. Zu diesem Zeitpunkt überdeckt die Anlage noch kuppelförmig fast den gesamten optischen Teil der Hemisphäre (vgl. Abb. 5, 8b). In der weiteren Entwicklung baut sich die äußere Anlage von ihrem medialen Rand her allmählich ab und nimmt dadurch mehr und mehr eine ringförmige Gestalt in der lateralen Oberfläche der Hemisphäre an (vgl. Abb. 10b). Der größte Teil der Oberfläche des optischen Bereiches wird nun von der Zellkörperschicht der Medulla gebildet, die von der Anlage nicht mehr überdeckt wird.

Der Anteil der äußeren Anlage, der am lateralen Anlagenrand die Lamina bildet, erreicht seine größte Ausdehnung später als die Gesamtanlage, nämlich erst kurz vor der Pupariumbildung. In der weiteren Entwicklung nimmt der relative Anteil dieses Bereiches an der gesamten Anlage weiter zu. Etwa 20 Std. nach der Pupariumbildung sind schließlich alle noch übrigen Neuroblasten der äußeren Anlage der Bildung der Lamina zuzuordnen. Der Medullabereich der Anlage ist zu diesem Zeitpunkt bereits völlig aufgelöst. 5-10 Std. später sind keine Neuroblasten der äußeren Anlage mehr nachzuweisen, weder im Proliferationsbereich der Medulla noch in dem der Lamina.

Ähnlich wie die äußere Anlage erreicht auch die innere opti-

sche Anlage etwa 90 Std. nach Eiablage ihre größte Ausdehnung. Eine Zone des Abbaus, die dem medialen Rand der äußeren Anlage vergleichbar wäre, findet sich bei der inneren Anlage nur im caudalen Bereich des ventralen Schenkels, wo Ganglienzellen der Lobula gebildet werden. Im übrigen bleibt die kompakte Struktur der inneren Anlage auch in der Phase des Abbaus erhalten. Während die Anlage in ihrem epithelialen Bereich an Ausdehnung verliert und die Schenkel der Anlage zunehmend dünner werden, nimmt die Anzahl der Neuroblasten innerhalb des zentralen Zellpfropfes bis zur Zeit der Pupariumbildung zu. Ab dieser Zeit befindet sich der größere Anteil der Neuroblasten der inneren Anlage in diesem Bereich. Hier sind auch etwa 25 Std. nach der Pupariumbildung die letzten Neuroblasten der inneren Anlage nachzuweisen.

Form und Lage der optischen Anlagen bestimmen während der Proliferationsphase Wachstum und Anordnung der verschiedenen Zellgruppen. In der larvalen Phase der Proliferation führt die kuppelförmige Anordnung der äußeren optischen Anlage zu einem Wachstum des Medullakortex in radiale und laterale Richtung. Die Anordnung der Neuroblasten aus der inneren Anlage innerhalb der zentralen Zellgruppe hat neben einer lateralen Ausdehnung vor allem ein radiales Wachstum des Zellpfropfes zur Folge. Insgesamt bleibt dadurch die Kugelform der Hemisphäre erhalten. Je mehr jedoch die äußere Anlage vom medialen Rand her abgebaut wird, umso mehr bewirkt sie ein Überwiegend laterales Wachstum des Medullakortex. Der zentrale Pfropf der inneren Anlage dagegen behält sein Wachstum in radialer Richtung weitgehend bei. Die Folge davon ist, daß einerseits vom Zeitpunkt der Pupariumbildung an die Kugelform der Hemisphäre verloren geht und die medio-laterale Achse zur längeren Achse wird, und daß andererseits durch die Proliferationstätigkeit der inneren Anlage der Ring von Medullazellen mehr und mehr geöffnet wird. Zur Zeit der Pupariumbildung berühren sich die Enden der äußeren Anlage und des Medullakortex im dorso-

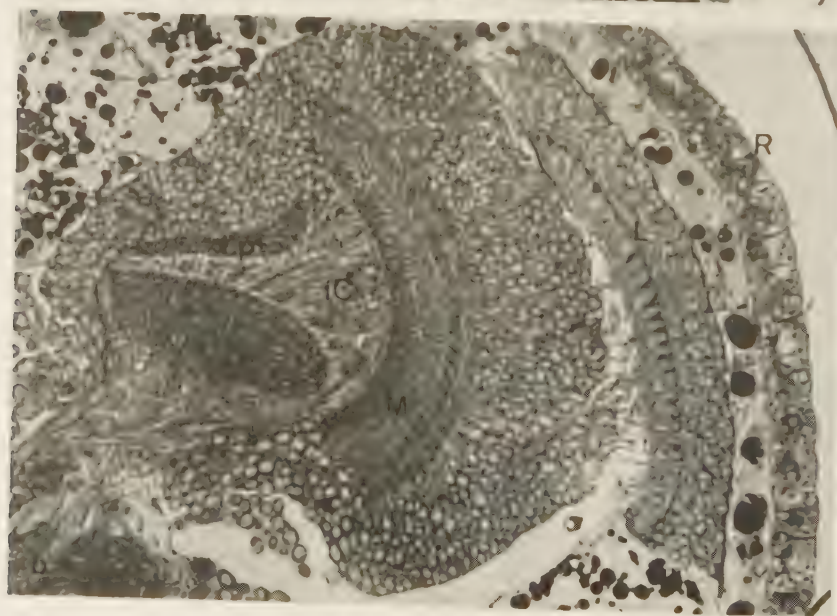
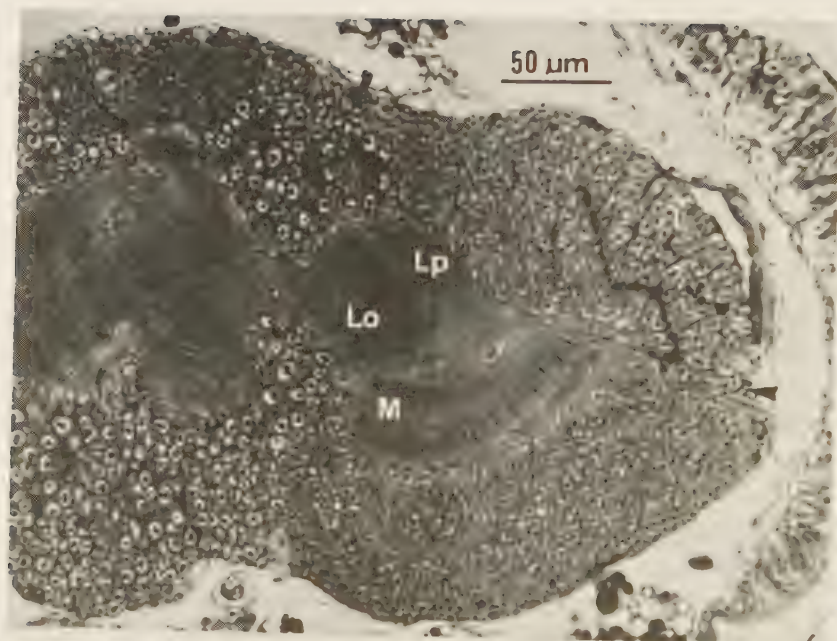
caudalen Bereich nur noch in Form eines dünnen Steges. In der weiteren Entwicklung öffnet sich der Ring vollends, und die Zellen des ursprünglichen zentralen Zellpfropfes bilden die Oberfläche der Hemisphäre im dorso-caudalen Bereich. Die Zellen des Lobula-Komplexes und der Medulla liegen sich also gegenüber (Abb. 6a). Derselbe Prozeß führt dazu, daß sich das Ausmaß der Krümmung des Medullaneuropils mehr und mehr verringert. Damit verbunden ist eine entsprechend geringere Krümmung der inneren Anlage und der Lamina. Etwa 25 Std. nach der Pupariumbildung, zum Ende der Proliferationsphase, ist die Sichelform der Lamina nur noch angedeutet und entspricht bereits mehr einer ovalen Fläche.

3.1.4.4. Morphologische Veränderungen im Zusammenhang mit der Differenzierung der Ganglien

Beginnend schon in der Zeit der Ganglienzellbildung und vor allem nach Beendigung der Proliferationsphase findet in der Puppe im Zusammenhang mit der Ausdifferenzierung der Kopfstrukturen der Imago eine Umordnung der Ganglien, vor allem der Lamina und der Medulla, statt.

Bis zum Ende der Proliferationsphase ist die Lamina unverändert in den Verband der larvalen Hemisphäre einbezogen (vgl. Abb. 6a). Etwa ab 30 Std. nach der Pupariumbildung beginnt sich die Lamina aus der Hemisphäre zu lösen und sich der Augenanlage zu nähern, die bis dahin durch die Kopfausstülpung und im Zusammenhang mit der beginnenden Ausdifferenzierung der imaginalen Kopfkapsel ihre endgültige Lage eingenommen hat. 45 Std. nach der Pupariumbildung steht die Lamina mit der Gehirnhemisphäre nur noch durch die Verbindungsfasern zwischen Lamina und Medulla in Verbindung (vgl. Abb. 6b).

Gleichzeitig mit der Herauslösung der Lamina aus dem Verband der Hemisphäre verändern Ganglienzellschicht und Neuropil der Medulla ihre ursprüngliche Lage. Bis 30 Std. nach der Pupariumbildung liegt das Medullaneuropil senkrecht zur



Lamina und mehr oder weniger parallel zum Lobula-Komplex im ventral-anterioren Bereich der Hemisphäre (vgl. Abb. 6a). Im Zusammenhang mit der Annäherung der Lamina an die Retina dreht sich die Medulla um etwa 90° , so daß sie parallel zur Lamina und rechtwinklig zum Lobula-Komplex orientiert ist (vgl. Abb. 6b). Mit dieser Uorientierung ist eine weniger auffällige Verlagerung der Zellen des Lobula-Komplexes verbunden. Die Zellen des ursprünglichen Pfropfes der inneren Anlage werden durch die Medulla weiter nach posterior geschoben, die Zellen der Lobula plate kommen dadurch direkt über dem von ihnen gebildeten Neuropil zu liegen. Die distale Zellgruppe des Pfropfes, die in die Medulla projiziert, liegt keilförmig angeordnet zwischen den Zellen der Lobula plate und dem hinteren Rand der Medulla. Die Zellen der Lobula, die ursprünglich im dorso-ventralen Bereich medial zu den Zellen der Lobula plate plaziert waren, kommen nun in den durch die Medullaverschiebung frei werdenden Raum in der Nähe des zugehörigen Neuropils zu liegen.

Dieses Stadium der Pupalentwicklung ist die einzige Phase

Abb. 6a: Frontalschnitt durch die optischen Ganglien, 20 Std. nach Pupariumbildung. Lobula und Lobula plate sind bereits als getrennte Strukturen erkennbar. Die Zellkörperschicht der Medulla ist auf den anterioren und ventralen Bereich beschränkt. An der Grenze zwischen Medullakortex und Lamina (Pfeil) ist noch ein Rest der äußeren optischen Anlage zu erkennen. Das Neuropil der Lamina ist als dunkler Streifen im medialen Bereich der Lamina erkennbar. Durch ein Artefakt sind Fasern zwischen Lamina und Medulla (vermutlich R7) und ihre Endigungen im Medullaneuropil dunkel angefärbt und lassen die Anlage des äußeren Chiasmas erkennen.

Abb. 6b: Frontalschnitt durch die optischen Ganglien, 43 Std. nach Pupariumbildung. Die Lamina ist aus dem Verband der Hemisphäre herausgelöst, die Medulla hat sich um 90° gedreht und steht parallel zur Lamina. Der Abbildungsmaßstab ist derselbe wie in Abb. 6a.
iC inneres Chiasma; L Lamina; Lo Neuropil der Lobula; Lp Neuropil der Lobula plate; M Neuropil der Medulla; R Retina.

in der Gesamtentwicklung der optischen Ganglien, in der die Ganglienzellen jeweils direkt über dem dazugehörigen Neuropil angeordnet sind. Zumindest im Fall der Medulla geht diese Zuordnung in der weiteren Entwicklung wieder verloren. Durch das Anwachsen der Neuropilzonen und die proximo-distale Ausdehnung der Retina werden die Ganglienzellen der Medulla in eine ringförmige Anordnung über den Rändern des Medullaneuropils gedrängt. Erst dadurch wird das äußere Chiasma deutlich sichtbar (vgl. Abb. 1). Die Anordnung der optischen Ganglien hat damit im wesentlichen den Zustand erreicht, wie er in der Imago vorgefunden wird.

3.2. Die Zellproliferation in den optischen Anlagen und Ganglien

Die Darstellung der Proliferationstätigkeit erfolgt aufgrund autoradiographischer und histologischer Beobachtungen. In den beiden ersten Abschnitten wird das Proliferationsmuster in den Anlagen und bei der Bildung der Ganglienzellen beschrieben. Darauf folgend werden quantitative Aspekte der Zellproliferation dargestellt, wie sie sich aus Zellzählungen zu den verschiedenen Entwicklungsstadien ergeben. In einem weiteren Abschnitt wird die Rolle des Zelltodes bei der Entwicklung der Ganglien untersucht. Im letzten Abschnitt schließlich werden Aspekte der Zellproliferation dargestellt, die sich aus der Korrelation von Entstehungszeit und Lage der Zellen ergeben. Zu beliebigen Entwicklungsstadien werden Zellen, die die letzte S-Phase durchlaufen, dauerhaft markiert und zu späteren Entwicklungszeitpunkten identifiziert.

3.2.1. Das Proliferationsmuster der optischen Anlagen in den ersten beiden Larvenstadien

Inkubationsexperimente mit ^3H -Thymidin unmittelbar nach dem Schlüpfen der Larve aus dem Ei ergeben im Bereich der opti-

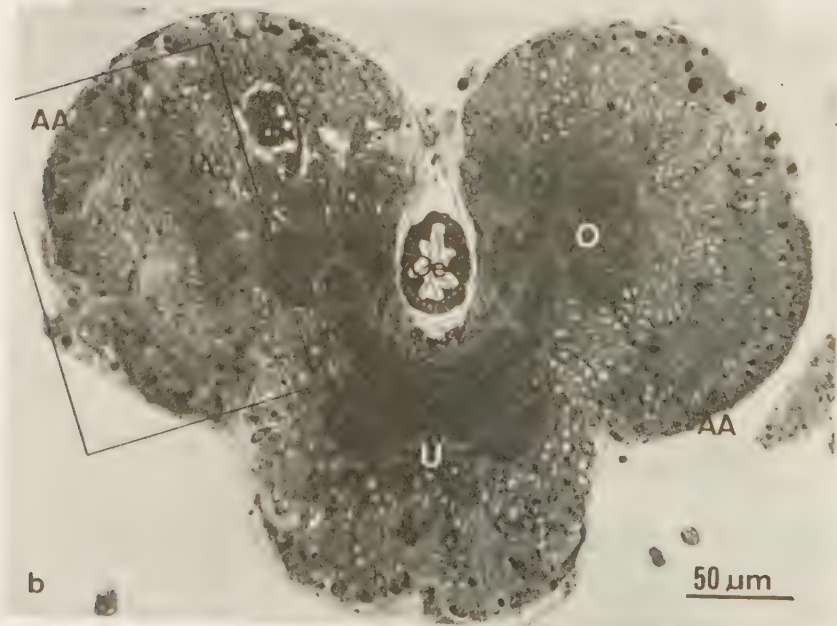
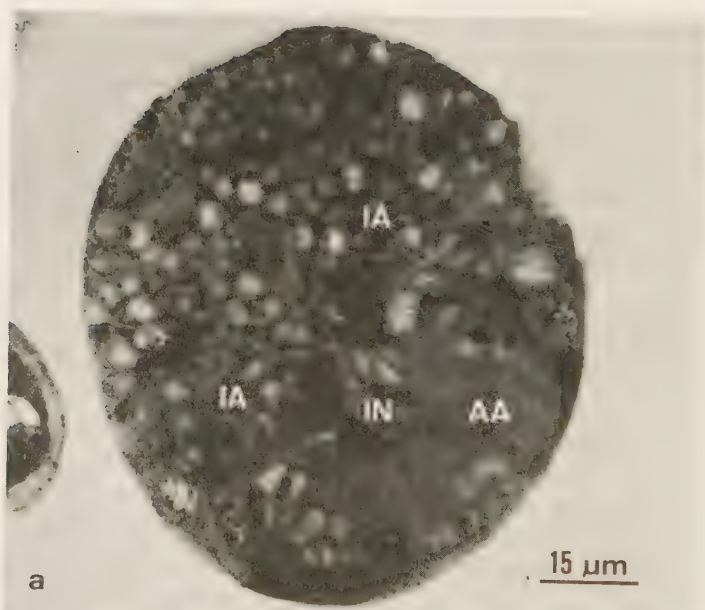
schen Anlagen keine markierten Zellen. Das entspricht der Situation im größten Teil des Gehirns der frischgeschlüpf-ten Larve. Mit Ausnahme einiger weniger Zellen außerhalb des optischen Bereiches der Hemisphären zeigen zu diesem Zeitpunkt keine Zellen Thymidineinbau. In Übereinstimmung damit nimmt auch in der ersten Zeit der Larvalentwicklung, etwa die ersten zehn Stunden, die Anzahl der Neuroblasten in den optischen Anlagen kaum zu (vgl. Abb. 13).

Im weiteren Verlauf der ersten beiden Larvenstadien steigt dann jedoch die Zahl der Neuroblasten stark an, von etwa 35 bis auf etwa 1000 am Ende des zweiten Stadiums. Davon entfallen zu diesem Zeitpunkt auf die äußere optische Anlage ca. 650 Neuroblasten, auf die innere Anlage ca. 350. Daraus läßt sich ableiten, daß sich im Durchschnitt die Anzahl der Neuroblasten alle 7-8 Std. verdoppelt. In vitro-Markierungsexperimente mit ^3H -Thymidinpulsen ergeben in diesem Entwicklungsstadium markierte Neuroblasten in beiden optischen Anlagen (vgl. Abb. 7a). Markierte und nicht markierte Zellen scheinen dabei nicht regellos vermischt zu sein, sondern jeweils in Gruppen aufzutreten. Trotzdem war es nicht möglich, ein räumliches Muster von Markierungszonen innerhalb der Anlagen zu ermitteln. Das mag an der unzulänglichen Auflösung der Rekonstruktionsversuche liegen, oder es ist die Folge einer regellosen Verteilung von Gruppen synchronisierter Zellen in den Anlagen.

Ein Zusammenhang zwischen der Proliferationstätigkeit und den larvalen Häutungszyklen wurde nicht beobachtet. Die zeitlichen Abstände der beobachteten Stadien sind jedoch zu groß, um einen solchen Zusammenhang auszuschließen.

3.2.2. Das Proliferationsmuster während der Zeit der Ganglienzellbildung

Vom Ende des zweiten Larvenstadiums an gehen aus der mitotischen Aktivität der optischen Anlagen nicht nur weiterhin neue Neuroblasten hervor, sondern es werden nun zusätzlich



die Ganglienzellen der optischen Ganglien gebildet. Mit diesem Prozeß sind Veränderungen im histologischen Bild der Anlagen und in der Verteilung der Markierung nach dem Einbau von radioaktivem Thymidin korrelierbar.

Das ^3H -Thymidin wurde entweder als kurzer Puls in vitro angeboten, wobei unmittelbar darauf die Fixierung folgte, als Puls in Form einer Injektion mit einer beliebig langen darauffolgenden Überlebenszeit, oder es wurde über einen längeren Zeitraum von einigen Stunden zum Einbau angeboten, indem es an die Larven verfüttert wurde. Die Ergebnisse dieser Experimente werden in jeweils einem Abschnitt dargestellt.

3.2.2.1. Autoradiographische Darstellung des Proliferationsmusters nach einem ^3H -Thymidinpuls in vitro

Die hier dargestellten Ergebnisse beziehen sich auf Experimente, bei denen das herauspräparierte Gehirn der Larven mit radioaktivem Thymidin in vitro inkubiert und sofort anschließend fixiert wurde. Die Inkubationszeit betrug in allen Fällen 30 Min. In den autoradiographischen Präparaten

Abb. 7a: Frontalschnitt durch die Gehirnhemisphäre einer Larve gegen Ende des zweiten Larvenstadiums. In vitro- ^3H -Thymidinmarkierung, Inkubationsdauer 30 Min. Markierte und nicht markierte Neuroblasten liegen jeweils in Gruppen beieinander.

Abb. 7b: Frontalschnitt durch das Gehirn einer Larve gegen Mitte des dritten Larvenstadiums. In vitro ^3H -Thymidinmarkierung, Inkubationsdauer 30 Min. Der Schnitt läßt die beiden Oberschlundganglien (Hemisphären) und das Unterschlundganglion mit den verbindenden Kommissuren erkennen. Der Schnitt ist unmittelbar hinter der Kommissur zwischen den beiden Oberschlundganglien geführt. Die Schnittebene liegt etwas schräg, die rechte Hemisphäre ist dadurch weiter frontal angeschnitten und zeigt nur die äußere optische Anlage. Der gekennzeichnete Ausschnitt ist in Abb. 8a wiedergegeben. AA äußere optische Anlage; IA innere optische Anlage; IN larvaler Nerv des optischen Stiels; O Neuropil des Oberschlundganglions; Oes Oesophagus; U Unterschlundganglion.

sollten unter diesen Bedingungen nur solche Zellkerne durch Silberkörner markiert sein, die während der Inkubationszeit Thymidin aufgenommen bzw. eingebaut haben. Im folgenden wird die Histologie und die Markierungsverteilung getrennt für die Proliferationsbereiche der äußeren und inneren Anlage und für die Proliferationsprozesse in den optischen Ganglien, die von den optischen Anlagen unabhängig sind, dargestellt.

3.2.2.1.1. Das Proliferationsmuster der äußeren optischen Anlage

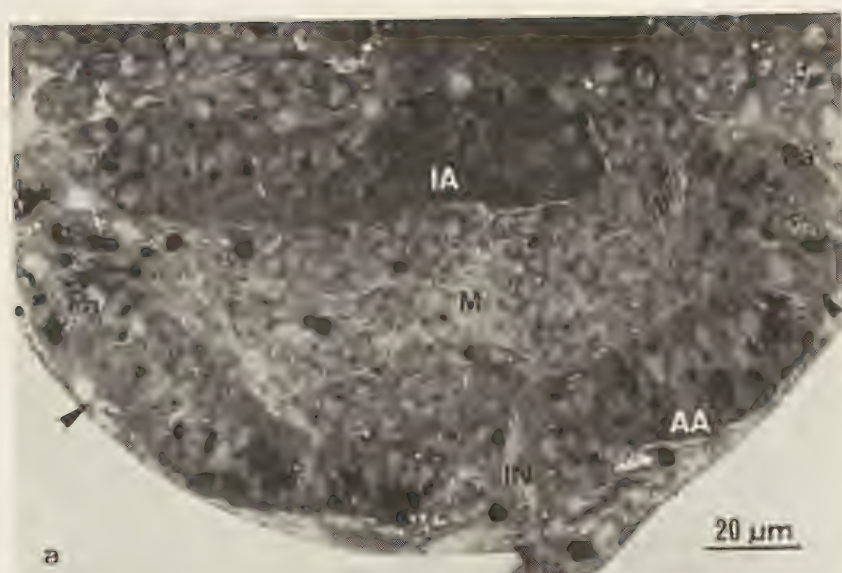
Schon am Ende des zweiten, vor allem aber mit Beginn des dritten Larvenstadiums treten am medialen Rand der äußeren optischen Anlage Zellen auf, die in ihrer Morphologie nicht den Neuroblasten der Anlage entsprechen. Sie unterscheiden sich von diesen durch ihre deutlich geringere Größe, ihr Kerndurchmesser beträgt etwa 3 - 4 μm , die Kerne erscheinen

Abb. 8a: Ausschnitt aus Abb. 7b. In der äußeren Anlage ist die Eintrittsstelle des larvalen Nervs des optischen Stiels erkennbar. Die Ausformung der äußeren Anlage im Bereich der Laminaentstehung ist noch nicht deutlich entwickelt.

Abb. 8b, c: Gehirnhemisphäre einer Larve in der zweiten Hälfte des dritten Larvenstadiums nach ^3H -Thymidininkubation in vitro (30 Min.). b) und c) sind Schnitte aus einer Schnittserie. Die gekennzeichneten Ausschnitte sind in Abb. 9a und b wiedergegeben.

In den Abb. 8a-c kennzeichnen die Pfeile eine Zone in der äußeren optischen Anlage, die frei von markierten Zellen ist. Nach lateral an diese Zone, in Richtung der Eintrittsstelle des optischen Stiels, treten markierte Zellen nur innerhalb der Anlage auf, alle markierten Zellen sind Neuroblasten. Am medialen Rand der Anlage schließt sich an die markierungsfreie Zone eine Proliferationszone an, in der die Konturen der Anlage undeutlicher werden und innerhalb derer sowohl große Zellen innerhalb der Anlage (Neuroblasten) als auch kleinere Zellen außerhalb der Anlage (Gangliumutterzellen) Markierung zeigen.

AA äußere optische Anlage; AI Augenimaginalscheibe; IA innere optische Anlage; IN larvaler Nerv des optischen Stiels; M Neuropil der Medulla; Pa Proliferationszone am medialen Rand der äußeren optischen Anlage.



im Querschnitt eher rund und nicht ellipsoid, und sie besitzen viel weniger Plasma als die Neuroblasten. Sie liegen deutlich außerhalb der epithelialen Struktur der optischen Anlage und ihre Zahl nimmt im Verlauf des dritten Larvenstadiums stark zu. Es handelt sich bei diesen Zellen um Ganglienzellen des Medullakortex und, wie durch die autoradiographischen Ergebnisse noch näher zu zeigen sein wird, um Gangliennutterzellen, aus denen die Ganglienzellen durch Teilung hervorgehen.

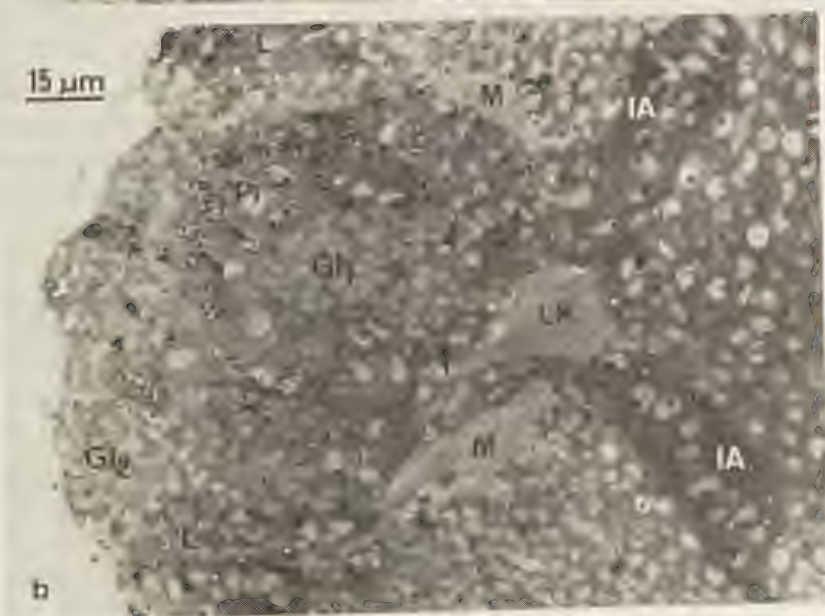
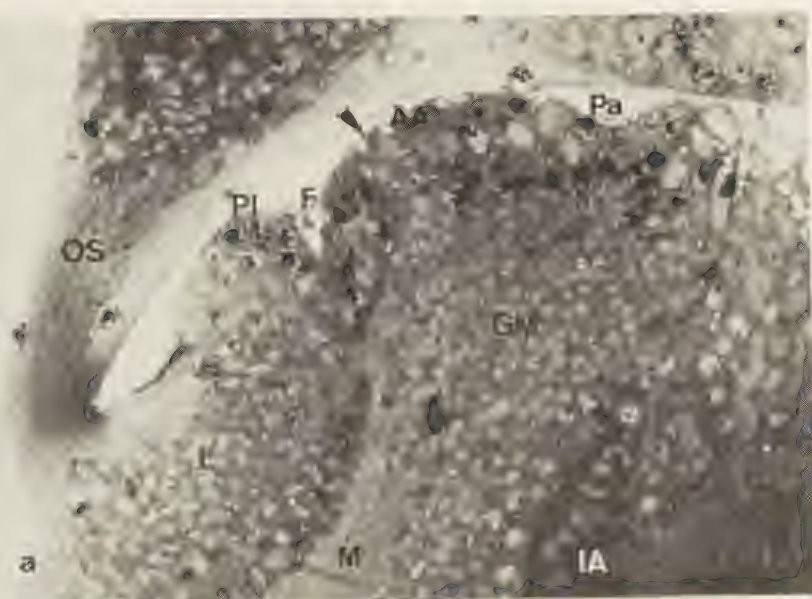
Im Verlauf des dritten Larvenstadiums beginnt sich die äußere optische Anlage von ihrem medialen Rand her zunehmend aufzulösen. Die Neuroblasten innerhalb dieses Abbaubereiches unterscheiden sich von den Zellen im epithelialen Teil der Anlage. Ihre Kerne und ihr Zellplasma ist nicht so stark

Abb. 9a: Ausschnitt aus Abb. 8b. Der Schnitt zeigt Medulla und Lamina mit der äußeren optischen Anlage und dem Eintritt des optischen Stiels mit den Rezeptoraxonen aus der Retina (Augenimaginalscheibe).

Abb. 9b: Ausschnitt aus Abb. 8c. Schnitt durch den zentralen Zellpfropf aus der inneren Anlage. Zur Anordnung der Ganglien vgl. Abb. 4.

In beiden Abbildungen sind die markierungsfreien Zonen der Anlagen durch Pfeile gekennzeichnet. Sie trennen die Proliferationszonen vom Rest der Anlagen. In den Proliferationszonen sind kleine Gangliennutterzellen und große Neuroblasten markiert. Die Neuroblasten der Proliferationszonen unterscheiden sich von denen der restlichen Anlagen durch die mehr abgerundeten Kerne, die schwächere Anfärbbarkeit und durch den meist fehlenden Nucleolus. Im Fall der lateralen Proliferationszone der äußeren Anlage, aus der die Lamina hervorgeht, sind sowohl die markierungsfreie Zone als auch die histologischen Merkmale weniger deutlich.

AA äußere optische Anlage; F Furche, die in der äußeren Anlage Lamina- und Medullaanteil voneinander trennt; G1₁, G1₂ Ganglienzellpopulationen, die aus dem Proliferationsbereich der inneren Anlage hervorgehen (vgl. Abb. 4); GM Ganglienzellschicht der Medulla; IA innere optische Anlage; L Lamina; LK Neuropil des Lobula-Komplexes; M Neuropil der Medulla; OS optischer Stiel; Pa mediale Proliferationszone der äußeren optischen Anlage; Pi Proliferationszone der inneren optischen Anlage innerhalb des zentralen Zellpfropfs; Pl laterale Proliferationszone der äußeren optischen Anlage (Lamina).



und so differenziert gefärbt, die großen Kerne mit einem Durchmesser von ca. 5 μ m sind stärker abgerundet als die ellipsoiden Kerne der typischen epithelialen Neuroblasten, die Nucleoli, die in den Zellen im epithelialen Teil der Anlage deutlich hervortreten, sind in den Kernen dieser Zellen meist nicht sichtbar (vgl. Abb. 9a, 10b). Es handelt sich bei diesen Zellen um eine besondere Form von Neuroblasten, die in Zusammenhang mit der Entstehung von Gangliennutterzellen und Ganglienzellen und mit dem Abbau der Anlage stehen. Ihre Morphologie und ihre Anordnung entspricht der Beschreibung, die White u. Kankel (1978), ebenfalls bei Drosophila, gegeben haben.

Im Laufe der Entwicklung schreitet diese Proliferationszone der äußeren optischen Anlage von medial nach lateral fort und erreicht kurze Zeit nach der Pupariumbildung den lateralen Rand der Anlage bzw. die begrenzende Furche, die den Lamina- und den Medullaanteil der Anlage voneinander trennt. Die Proliferationszone mit den Neuroblasten außerhalb der epithelialen Anlage ist dabei anfangs, zu Beginn des dritten Stadiums, sehr schmal und wird dann zunehmend breiter (vgl. Abb. 8a mit Abb. 9a). Das Fortschreiten der Proliferationszone hat zur Folge, daß schließlich, ebenfalls vom medialen Rand her, die Anlage völlig aufgelöst wird. Die Ganglienzellen der Medulla grenzen dann in diesem Bereich unmittelbar an das Perineurium der Hemisphäre (vgl. Abb. 10b). Bei den Neuroblasten innerhalb der Proliferationszone handelt es sich also um ein vorübergehendes Stadium vor der endgültigen Auflösung der Anlage, die von medial nach lateral hin abläuft und etwa 20 Std. nach der Pupariumbildung für den Bereich der Medulla beendet ist.

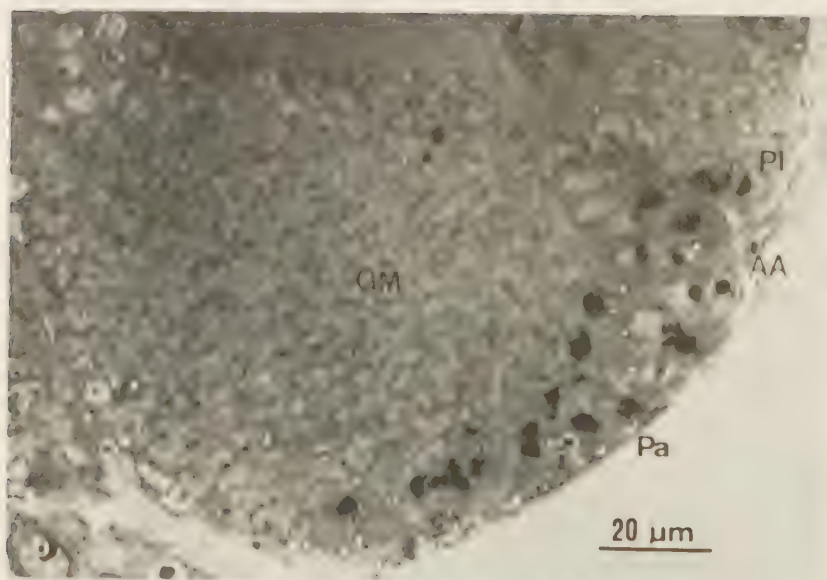
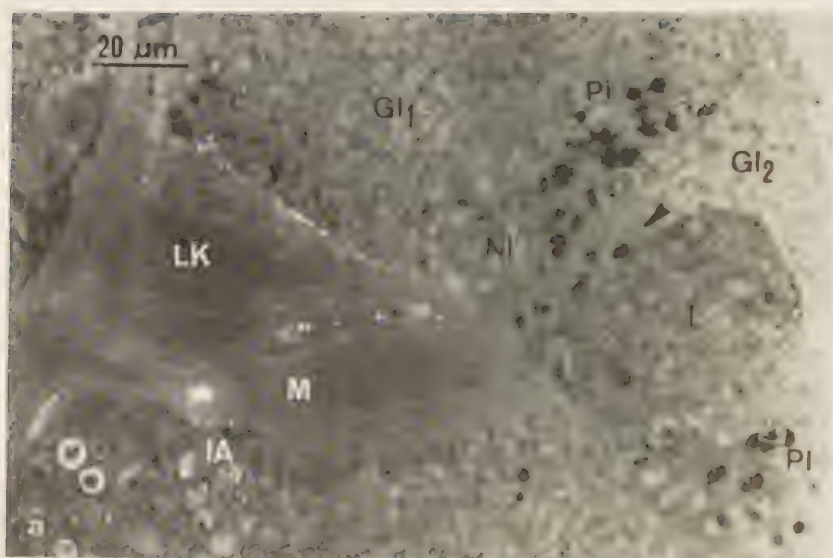
Am lateralen Rand der äußeren optischen Anlage, in der Proliferationszone, aus der die Zellen der Lamina hervorgehen, läßt sich keine so deutlich charakterisierte Übergangszone von der epithelialen Anlage zur Zellkörperschicht der Lamina zeigen wie im Fall der Medulla. Neuroblasten der epithelialen Anlage und Ganglienzellen liegen eng nebeneinander, die

charakteristischen Neuroblasten außerhalb der epithelialen Anlage fehlen. In vielen Fällen ist der Übergang von Neuroblasten in Ganglienzellen fließend, so daß eine sichere Bestimmung des Zelltyps schwierig ist (vgl. Abb. 9a, 10b).

Wenn zur Zeit der Ganglienzellproliferation, vor allem im Verlauf des dritten Larvenstadiums, durch eine in vitro-Inkubation ein kurzer ^3H -Thymidinpuls gegeben wird, unterstreicht die Verteilung von markierten und nicht markierten Zellen im Bereich der optischen Ganglien das histologische Erscheinungsbild.

Innerhalb des epithelialen Teils der äußeren optischen Anlage gleicht die Verteilung der markierten Neuroblasten der des zweiten Larvenstadiums. Die markierten Zellen sind mehr oder minder in Gruppen zusammengefaßt und könnten auf eine gewisse lokale Synchronisierung der Zellen hinweisen. Im epithelialen Teil der Anlage sind nur Neuroblasten markiert, die Ganglienzellen, die der Anlage an der inneren Fläche des Epithels unmittelbar benachbart sind, zeigen keine Markierung (vgl. Abb. 8a, 9a).

Völlig anders ist die Markierungsverteilung im Bereich der Proliferationszone der Anlage an ihrem medialen Rand. Die Neuroblasten außerhalb des epithelialen Teils der Anlage sind von einem Saum von Zellen umgeben, die in ihrer Größe den Ganglienzellen entsprechen, die aber deutlich markiert sind. Wenn man das übliche Teilungsmuster von Neuroblasten in Ganglienmutterzellen und Ganglienzellen zugrundelegt, sollte es sich bei diesen markierten Zellen um Ganglienmutterzellen handeln, die aus den Neuroblasten der Anlage durch Teilung hervorgegangen sind. Von den Neuroblasten innerhalb des Proliferationsbereiches ist ein Teil ebenfalls markiert. Auffallend ist, daß die Neuroblasten und die markierten Ganglienmutterzellen in der Proliferationszone meist unmittelbar benachbart sind, ohne daß sich eine Zone unmarkierter Zellen in der Größe von Ganglienmutterzellen zwischen ihnen befindet (vgl. Abb. 8a, 9a, 10b).



Der epitheliale Teil der äußeren optischen Anlage und die Proliferationszone am medialen Rand der Anlage sind durch eine markierungsfreie Zone der Anlage getrennt (vgl. Abb. 8b,c). Diese Zone zieht sich parallel zum medialen Rand der Anlage um die ganze Hemisphäre und ist lediglich im dorso-caudalen Bereich der Hemisphäre, wo die Enden der äußeren Anlage sich treffen, undeutlicher.

Am lateralen Rand der äußeren Anlage, der Bildungszone der Lamina, sind markierte Neuroblasten und Gangliengliumzellen auf den äußersten lateralen Bereich konzentriert (vgl. Abb. 9a, 10b). Auch hier sind markierte Neuroblasten und Gangliengliumzellen unmittelbar benachbart; die histologisch schwierige Unterscheidung der Zelltypen wird durch die Autoradiographie also nicht einfacher gemacht. Im dem Bereich, der unmittelbar an den der Medulla zugeordneten Teil der Anlage grenzt, sind nur vereinzelt Neuroblasten markiert.

Abb. 10: Zwei Ausschnitte aus einem Frontalschnitt durch die Gehirnhemisphäre einer Larve zur Zeit der Pupariumbildung. Das Gehirn wurde *in vitro* mit ^3H -Thymidin inkubiert (30 Min.)

Abb. 10a: Ausschnitt mit der Proliferationszone der inneren optischen Anlage und der lateralen Proliferationszone der äußeren optischen Anlage (Lamina). Der Pfeil weist auf markierte Zellen unmittelbar dorsal der Lamina hin. Sie sind vom größeren Rest der Proliferationszone der inneren Anlage durch Nervenfasern der Zellen aus der distalen Zellgruppe (GI_2) getrennt und stehen mit der Entstehung der Gruppe GI_2 in Zusammenhang.

Abb. 10b: Äußere optische Anlage mit der medialen Proliferationszone (Medulla) und dem Medullakortex.

AA äußere optische Anlage; GI_1 mediale Zellgruppe aus der Proliferationszone der inneren optischen Anlage, Gangliengliumzellen der Lobula plate; GI_2 distale Zellgruppe aus der Proliferationszone der inneren optischen Anlage; GM Gangliengliumzellen der Medulla; IA innere optische Anlage; L Lamina; LK Neuropil des Lobula-Komplexes; M Neuropil der Medulla; NI Neuroblasten innerhalb des Zellpfropfes aus der inneren optischen Anlage; Pa mediale Proliferationszone der äußeren optischen Anlage (Medulla); Pi Proliferationszone der inneren optischen Anlage (GI_1); Pl laterale Proliferationszone der äußeren optischen Anlage (Lamina).

3.2.2.1.2. Das Proliferationsmuster der inneren optischen Anlage

Die Proliferationstätigkeit der inneren optischen Anlage besteht im wesentlichen aus der Teilungsaktivität der Neuroblasten innerhalb des zentralen Zellpfropfs aus der inneren Anlage. Ausgehend von der anterioren Krümmung der Anlage, die die mediale Begrenzung des Medullaneuropils bildet, zieht sich an der Innenfläche des Neuropils entlang eine Schicht von Neuroblasten nach lateral. Senkrecht zu dieser Schicht ziehen die Verbindungsfasern zwischen dem Neuropil der Medulla und dem Lobula-Komplex. Die Neuroblasten erscheinen dadurch in Form von "Zellensträngen" (Bauer, 1904) angeordnet, die sich von medial nach lateral ziehen. Die Neuroblasten in diesem Bereich entsprechen in ihrer Anfärbbarkeit, der Größe der Zellkerne und dem deutlich sichtbaren Nucleolus den Zellen innerhalb der inneren Anlage im engeren Sinn, sie sind jedoch nicht in einer epithelialen Weise angeordnet. Noch weiter lateral, nun inmitten der Ganglienzellen des Zellpfropfes, schließen sich Zellen an, die in ihrem Aussehen den Neuroblasten der äußeren Anlage innerhalb der medialen Proliferationszone entsprechen. Sie haben große, abgerundete Kerne, die meist keinen Nucleolus erkennen lassen und lassen sich insgesamt weniger stark anfärben. Die Anatomie und Histologie dieses Bereiches ist aus den Abb. 4, 9b und 10a zu entnehmen.

Nach einem kurzen Puls (30 Min.) von ^3H -Thymidin in vitro in der zweiten Hälfte des dritten Stadiums und sofortiger anschließender Fixierung unterstreicht auch hier, wie im Fall der äußeren optischen Anlage, die Autoradiographie das Ergebnis der histologischen Untersuchung. Innerhalb des epithelialen Anteils der inneren Anlage zeigen wenige verstreut liegende Neuroblasten Markierung. An der Übergangszone des epithelialen Teils in die "Zellenstränge" zwischen dem Neuropil der Medulla und des Lobula-Komplexes ist ein Markierungsmaximum zu erkennen. Nahezu alle Neuroblasten in

diesem Übergangsbereich zeigen Silberkörner. Unmittelbar lateral an diese Zone, noch im Bereich der stark angefärbten Neuroblasten, schließt sich eine Zone an, in der alle Zellen keine oder nur sehr schwache Markierung zeigen. Erst daran anschließend, noch weiter lateral, beginnt die Zone mit markierten Neuroblasten, Teilungsstadien und markierten Gangliemutterzellen, die die eigentliche Proliferationszone des Zellpfropfes darstellt. Durch diese Zone werden zwei Ganglienzellpopulationen voneinander getrennt, eine mediale und eine distale. Die Existenz von markierten Zellen unmittelbar am posterioren Rand der Lamina (Abb. 10a) spricht dafür, daß die beiden Zellpopulationen nicht dadurch entstehen, daß von der Proliferationszone symmetrisch nach zwei Richtungen hin Zellen abgegeben werden. Der Hauptteil der Proliferationszone scheint die Zellen ausschließlich in medio-dorsale Richtung abzugeben, während die distale Zellgruppe unmittelbar neben der Lamina nach lateral hin abgegeben wird.

Am Ende des ventralen Schenkels der inneren optischen Anlage gibt es ebenfalls einen Bereich, in dem sich Neuroblasten der Anlage in Gangliemutterzellen und Ganglienzellen teilen. Eine Abfolge von histologischen oder autoradiographisch definierbaren Zonen gibt es in diesem Bereich jedoch nicht. Vielmehr handelt es sich um einen Übergang von Neuroblasten in Zellen, die ihrer Morphologie nach Ganglienzellen entsprechen. Nach einem ^3H -Thymidinpuls im fortgeschrittenen dritten Larvenstadium sind hier in enger Nachbarschaft sowohl Zellen markiert, die ihrem histologischen Aussehen nach als Neuroblasten einzustufen sind, als auch Zellen, bei denen es sich um Gangliemutterzellen handeln dürfte. Insgesamt ist die Unterscheidung von Zelltypen innerhalb dieser kleinen Gruppe recht unsicher.

3.2.2.1.3. Zellproliferation im Bereich der optischen Ganglien außerhalb der optischen Anlagen

Nach einer Pulsmarkierung in vitro im dritten Larvenstadium befindet sich der weitaus größte Teil der markierten Zellen in den optischen Anlagen oder den dazugehörigen Proliferationszonen. Daneben gibt es jedoch vereinzelt, aber regelmäßig, deutlich markierte Zellen, die mit der Proliferations-tätigkeit der optischen Anlagen nicht in Zusammenhang gebracht werden können. Sie befinden sich ausschließlich in Bereichen, in denen Faserwachstum stattfindet, also in den Bildungszonen der Neuropilstrukturen oder der Faserverbindungen zwischen den einzelnen Ganglien. Besonders deutlich ist dies im Fall der Lamina zu beobachten, wo solche Zellen unmittelbar proximal und distal der feinen Neuropilschicht, an der Eintrittsstelle des optischen Stiels und zwischen Lamina und Medullaneuropil auftreten (vgl. Abb. 9a). Zumindest im Falle der Lamina kann es sehr wahrscheinlich gemacht werden, daß es sich bei diesen Zellen um Gliazellen handelt, deren Proliferationsmuster nicht mit dem der Ganglienzellen identisch ist (vgl. u. S. 80f.).

3.2.2.2. ³H-Thymidinaufnahme über längere Zeiträume

Bei allen bisherigen Ergebnissen handelte es sich um die Resultate nach einem kurzen Puls von 30 Min. in vitro mit ³H-Thymidin. Für die Charakterisierung des Proliferationsprozesses ist es nötig, den Thymidineinbau auch über längere Zeiträume zu verfolgen. Um dabei mögliche Artefakte durch die in vitro-Methode zu vermeiden, wurde für diese Experi-

Abb. 11: Vergleichbare Bereiche der äußeren optischen Anlage von Larven der zweiten Hälfte des dritten Larvenstadiums nach unterschiedlich langer Fütterung mit ³H-Thymidin. a) 5 Std., b) 7 Std., c) 9 Std. Fütterungsdauer. Die tatsächliche Einbaudauer muß etwa 2 Std. kürzer als die Fütterungsdauer angenommen werden.



mente das ^3H -Thymidin an die Larven verfüttert. Da die Tiere sich dabei an das neue Futter gewöhnen müssen und es eine gewisse Zeit dauert, bis genügend radioaktives Thymidin aufgenommen ist, beträgt die tatsächliche Einbau-dauer des ^3H -Thymidins etwa zwei Std. weniger als die Fütterungsdauer.

Nach einer Fütterungszeit von 5 Std. ist das Ergebnis vergleichbar mit dem aus den in vitro-Experimenten. Die Markierung ist jedoch nicht so stark und die Markierungszonen sind nicht so klar umrissen. Trotzdem ist die unterschiedliche Markierung im epithelialen Teil der Anlagen, in dem ausschließlich Neuroblasten markiert sind, und in den Proliferationszonen mit markierten Neuroblasten und Gangliennutterzellen zu erkennen. Wie in den in vitro-Experimenten sind beide Bereiche durch einen Streifen nicht markierter Zellen voneinander getrennt (vgl. Abb. 11a).

Nach einer verlängerten Fütterungszeit von 7 Std. ist der Überwiegende Teil aller Neuroblasten markiert. Innerhalb der äußeren optischen Anlage sind innerhalb der lateralen Proliferationszone der Lamina nur noch vereinzelt Neuroblasten ohne Markierung erkennbar. Innerhalb der medialen Proliferationszone der Medulla ist kein durchgehender Streifen von markierungsfreien Zellen mehr sichtbar. In der Nähe der Grenze zwischen epithelialem Teil der Anlage und der Proliferationszone finden sich jedoch regelmäßig Neuroblasten, deren Kerne keine Silberkörner zeigen (vgl. Abb. 11b). Das Erscheinungsbild der inneren optischen Anlage gleicht dem der äußeren. Die markierungsfreie Neuroblastenzone im Bereich der "Zellenstränge" nahe dem epithelialen Teil der Anlage ist nicht mehr deutlich zu sehen. In der lateral anschließenden Proliferationszone sind auch hier einzelne Kerne von Neuroblasten zu erkennen, die keine Markierung aufweisen.

Nach 9 Std. Fütterungszeit schließlich sind nur noch ganz vereinzelt nicht markierte Neuroblasten in der äußeren An-

lage nachzuweisen, alle übrigen Zellen der Anlage sind markiert (vgl. Abb. 11c). Im Fall der inneren optischen Anlage ist das Bild etwas schwieriger zu interpretieren, da die Neuroblasten nicht so eindeutig charakterisierbar sind. Doch unmarkierte Zellen gehören nach dieser Fütterungszeit auch hier zu den Ausnahmen.

Während im Falle der in vitro-Experimente die markierten Gangliumutterzellen auf einen schmalen Saum in unmittelbarer Nähe der Neuroblasten im Bereich der Proliferationszonen beschränkt waren, sind bereits nach 5 Std. Fütterungsdauer alle Zellen innerhalb eines erweiterten Bereiches um die Proliferationszonen der Anlagen markiert. Eine Identifizierung dieser Zellen als Gangliumutterzellen ist hier nicht mehr selbstverständlich, da es sich auch um Ganglienzellen handeln kann, die während der Fütterungszeit aus markierten Gangliumutterzellen hervorgegangen sind. Mit zunehmender Fütterungsdauer wird die Anzahl dieser markierten Zellen immer größer. Sie liegen weiterhin innerhalb eines deutlich umrissenen Bereiches angrenzend an die Proliferationszonen der Anlagen. Alle Zellen innerhalb dieser Bereiche zeigen Markierung (vgl. Abb. 11).

3.2.2.3. Markierungsverteilung im larvalen Gehirn nach kurzfristigem ^3H -Thymidineinbau und anschließender Überlebenszeit.

Nach einem ^3H -Thymidinpuls durch Injektion oder auch durch eine Verfütterung des ^3H -Thymidins über einen Zeitraum von 3-5 Std. mit einer anschließenden Überlebenszeit ergibt sich eine charakteristische Veränderung in der Verteilung von markierten Zellen der optischen Anlagen und Ganglien. Am deutlichsten sind diese Veränderungen im Bereich der medialen Proliferationszone der äußeren optischen Anlage.

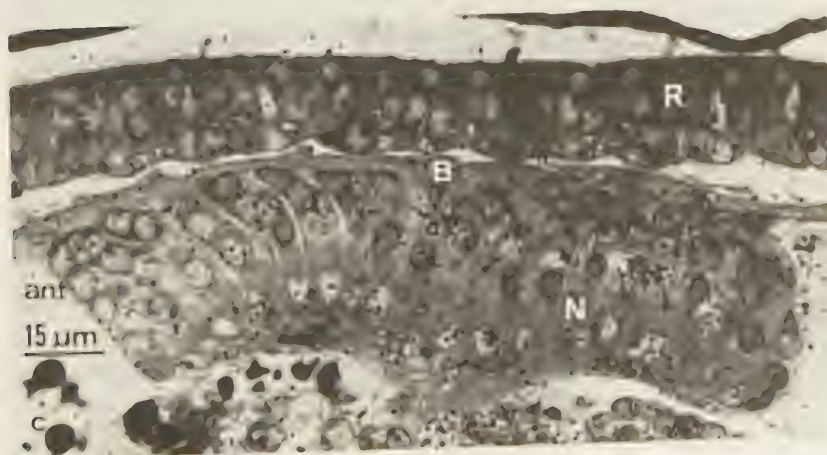
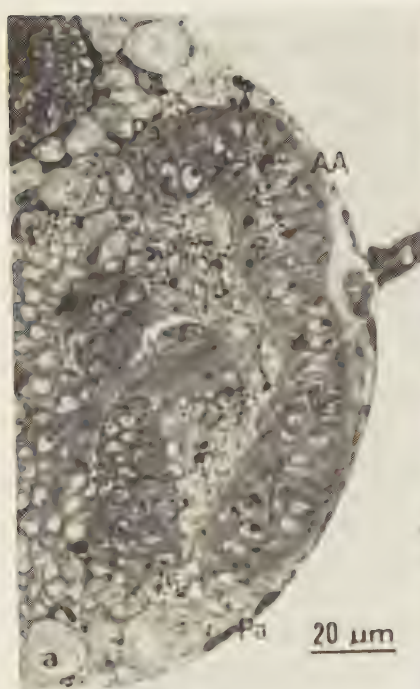
Nach einer Überlebenszeit von 6 Std. nach dem ^3H -Thymidinpuls entspricht die Markierungsverteilung im epithelialen Teil der Anlage im großen und ganzen dem Bild nach einer

Inkubation mit unmittelbar anschließender Fixierung. Die markierungsfreie Zone an der Grenze zwischen epithelialem Teil der Anlage und der Proliferationszone hat sich nach lateral hin verschoben, sodaß sie mehr die Neuroblasten der Proliferationszone selber umfaßt. Nach einer Überlebenszeit von 13 Std. ist dieser Effekt verstärkt (vgl. Abb. 12a). Die markierungsfreie Zone umfaßt nun nahezu die ganze Proliferationszone der Anlage. Die Ganglienzellen bzw. Gangliengliemutterzellen im Bereich der Proliferationszone sind ebenfalls ohne Markierung. Die markierten Ganglienzellen sind also von der Anlage durch einen Streifen unmarkierter Zellen getrennt. Wenn die Überlebenszeit nach dem ^3H -Thymidinimpuls auf noch längere Zeit ausgedehnt wird (40 Std. in Abb. 12b), wird die Markierung innerhalb des epithelialen Teils der Anlage und mit zunehmender Dauer auch in der Proliferationszone diffus und undeutlich, ein Zeichen, daß sich das radioaktive Thymidin durch Zellteilungen verdünnt. Innerhalb der Population der Ganglienzellen ist eine Bande

Abb. 12a,b: Autoradiographie der äußeren optischen Anlage nach Injektion von ^3H -Thymidin nach Beginn des dritten Larvenstadiums. Fixierung des Gehirns 13 Std. (a) bzw. 22 Std. nach der Injektion. Die Markierung innerhalb der äußeren Anlage dünnt sich mit der längeren Überlebenszeit aus, der Abstand zwischen den markierten Ganglienzellen der Medulla und der medialen Proliferationszone der Anlage nimmt zu. Der Vergrößerungsmaßstab ist in Abb. a) und b) gleich.

Abb. 12c: Autoradiographie der Lamina nach ^3H -Thymidin-Injektion zur Zeit der Pupariumbildung. Fixierung 40 Std. nach der Pupariumbildung. In der Lamina lassen sich dunkel angefärbte Zellkerne mit deutlichem Umriß von hellen Kernen mit diffusum Umriß unterscheiden. Die hellen Kerne sind auf den Bereich distal und proximal des Laminaneuropils beschränkt. Einige von ihnen sind durch Pfeile gekennzeichnet. Ihre Lage läßt darauf schließen, daß es sich bei den dunklen Kernen um die Kerne der Monopolarzellen, bei den hellen um die von Gliazellen handelt. Markierte Gliazellen sind über die gesamte Breite der Lamina verteilt, markierte Monopolarzellen sind auf die Markierungsbande bzw. auf den vorderen Teil der Lamina beschränkt.

AA äußere optische Anlage; B Markierungsbande in der Lamina; N Neuropilzone der Lamina; Pa mediale Proliferationszone der äußeren optischen Anlage; R Retina.



von stark markierten Zellen sichtbar, deren Abstand von der Proliferationszone der Anlage umso größer wird, je länger die Überlebenszeit nach der ^3H -Thymidininjektion ist.

An der lateralen Proliferationszone der äußeren Anlage und im Bereich der inneren optischen Anlage lassen sich dieselben Phänomene beobachten wie sie oben beschrieben wurden. Bedingt durch die anatomische Anordnung der Proliferationszonen und der aus ihnen entstehenden Ganglienzellen ist das histologische Bild in diesen Bereichen nicht so deutlich. Besonders im Fall der Lamina und der distalen Zellgruppe des zentralen Zellpfropfs, die in Richtung der Proliferationsrichtung nur eine geringe Ausdehnung besitzen, ist die Existenz und die Verschiebung der Markierungsbande nicht sehr deutlich erkennbar. Autoradiographische Untersuchungen nach ^3H -Thymidinpulsen an Puppen und Imagos werden jedoch eindeutig bestätigen, daß die Ergebnisse an allen Proliferationsfronten vergleichbar sind.

3.2.3. Quantitative Beschreibung der Zellproliferation

Die qualitative Auswertung von histologischen Bildern und von Autoradiogrammen wird ergänzt durch quantitative Daten aus Zellzählungen, die an den Abb. 13 und 14 wiedergegeben sind. Jeder Punkt der Graphik bezieht sich dabei auf die Auswertung eines Larvengehirns, wobei von jedem Gehirn die Zellen einer Hemisphäre gezählt wurden. Die Zählungen wurden anhand von photographischen Abzügen vorgenommen und entsprechend der Größe der Zellkerne korrigiert (vgl. Abschnitt 2.4.).

Aus den Kurven ist zu ersehen, daß die Anzahl der Neuroblasten sowohl in der äußeren als auch in der inneren optischen Anlage in den Larvenstadien 1 und 2 nach einer kurzen Anlaufzeit zu Beginn des ersten Stadiums in einer annähernd exponentiellen Form zunimmt. Die Zeit, innerhalb der sich die Zahl der Neuroblasten verdoppelt, beträgt in dieser

Phase ungefähr 7-8 Std. Unter der Voraussetzung, daß es innerhalb der Anlagen keine Zellen gibt, die sich in einem "Wartestadium" befinden, würde diese Zeit die durchschnittliche Dauer des Zellzyklus der Neuroblasten in diesem Entwicklungsstadium angeben. Etwa mit Beginn des dritten Larvenstadiums flacht die Kurve der Neuroblastenanzahl für beide Anlagen zunehmend ab und geht schließlich in eine stark abfallende Kurve über. Das Maximum der Kurven wird in beiden Anlagen in der zweiten Hälfte des dritten Stadiums erreicht; zur Zeit der Pupariumbildung nimmt die Zahl der Neuroblasten bereits wieder deutlich ab. 30 Std. nach der Pupariumbildung konnten in beiden Anlagen keine Neuroblasten mehr nachgewiesen werden.

In der Abb. 13 für die äußere Anlage ist eine zusätzliche Kurve für die Neuroblasten angegeben, die der Lamina zuzuordnen sind. Es handelt sich dabei um die Neuroblasten, die lateral der Furche in der äußeren Anlage liegen, die den Lamina- und Medullaanteil der Anlage voneinander trennt. Dabei ist zu beachten, daß zwar alle Neuroblasten des Laminaanteils ausschließlich Ganglienzellen der Lamina hervorbringen werden, daß aber möglicherweise der Anteil dieser Neuroblasten laufend aus dem Medullaanteil der Anlage ergänzt wird. Es handelt sich also bei dieser Einteilung um zwei nach ihrer anatomischen Anordnung unterschiedene Zellgruppen, es muß sich jedoch nicht um zwei unabhängig voneinander proliferierende Zellpopulationen handeln.

Der Lamina zuzuordnende Neuroblasten werden erst gegen Mitte des dritten Larvenstadiums sichtbar. Ihre Zahl steigt von da an stark an und erreicht mit ca. 330 Zellen ziemlich genau zur Zeit der Pupariumbildung ein Maximum, also später als die Gesamtzahl der Neuroblasten der äußeren optischen Anlage. Nach der Pupariumbildung wird der Anteil des Laminanteils an der Gesamtanlage immer größer. 20 Std. nach der Pupariumbildung sind alle verbliebenen Neuroblasten der äußeren optischen Anlage der Lamina zuzuordnen.

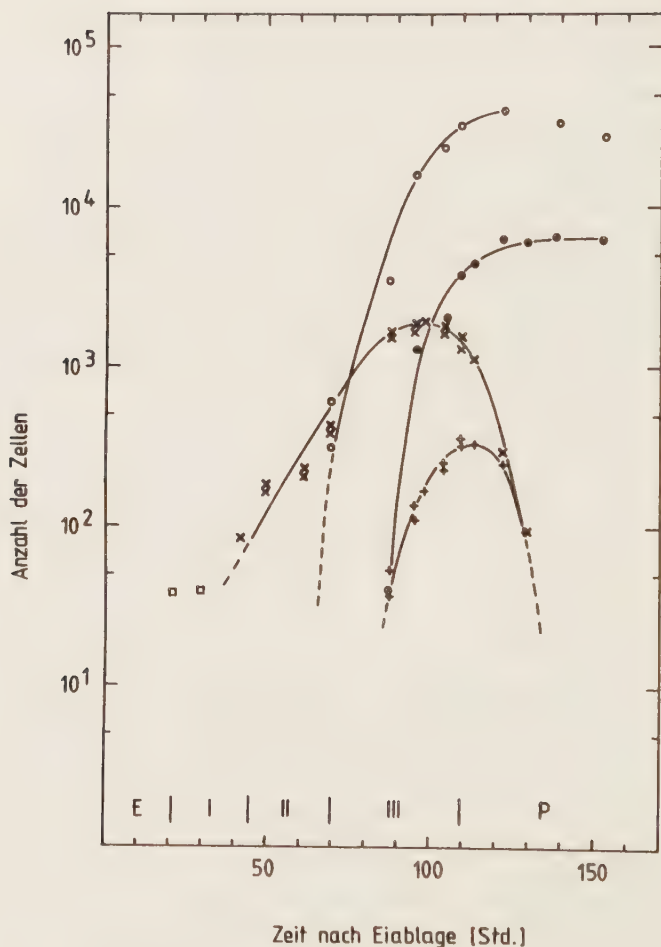


Abb. 13: Zellproliferation im Bereich der äußeren optischen Anlage. $\square$ Neuroblasten der gesamten optischen Anlagen (äußere und innere Anlage nicht unterscheidbar); $\times$ Neuroblasten der ges. äußeren optischen Anlage; $+$ Neuroblasten der äußeren Anlage, die der Lamina zuzuordnen sind; $\circ$ Ganglienzellen der Medulla aus der äußeren Anlage; $\bullet$ Ganglienzellen der Lamina distal zum Laminaneuropil; E Embryo; I, II, III Larvenstadium 1-3; P Puppe bzw. Praepupa.

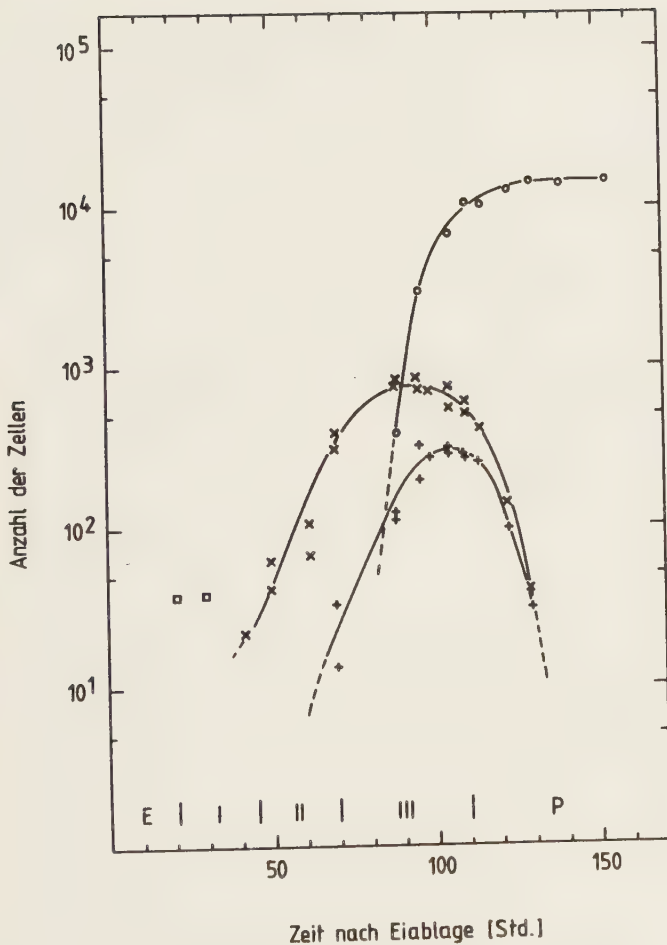


Abb. 14: Zellproliferation im Bereich der inneren optischen Anlage. □ Neuroblasten der gesamten optischen Anlagen (äußere und innere Anlage nicht unterscheidbar); x Neuroblasten der inneren optischen Anlage einschl. der "Zellenstränge"; + Neuroblasten der "Zellenstränge"; o Ganglionzellen aus der inneren Anlage (einschl. Lobula-Komplex, distale Zellgruppe des zentralen Zellpfropfes); E Embryo; I, II, III Larvenstadium 1-3; P Puppe bzw. Praepupa.

Im Fall der inneren optischen Anlage sind die Neuroblasten des epithelialen Teils der Anlage und die Neuroblasten innerhalb des zentralen Zellpfropfs zu unterscheiden. Letztere treten erst mit Beginn des dritten Larvenstadiums in Erscheinung und machen in der weiteren Entwicklung einen immer größeren Anteil an der Gesamtzahl der Neuroblasten der inneren optischen Anlage aus. In der Zeit nach der Pupariumbildung befindet sich die Mehrzahl der Neuroblasten im Bereich der nach lateral ziehenden "Zellenstränge".

Die Kurven der Ganglienzellen bzw. Ganglienmutterzellen gleichen einander in ihrem Verlauf. Unterschiedlich sind lediglich der Beginn der Proliferation, die Zuwachsrate pro Zeiteinheit und die am Ende der Proliferationsphase erreichten Zellzahlen.

Da die Ganglienmutterzellen morphologisch von den Ganglienzellen nicht sicher zu unterscheiden waren, wurden beide Zelltypen für die quantitative Auswertung nicht unterschiedlich behandelt. Da der Anteil der Ganglienmutterzellen, abgesehen vom Beginn der Proliferationsphase, verschwindend gering ist im Vergleich zur Zahl der Ganglienzellen, entsprechen die Kurven de facto den Kurven der Ganglienzellen.

Die ersten Ganglienzellen, die postmitotisch werden, gehören dem Kortex der Medulla an. Die Proliferation beginnt hier schon zum Ende des zweiten Larvenstadiums. Der Anfang der Kurven für die Ganglienzellen aus der inneren optischen Anlage fällt in die erste Hälfte des dritten Stadiums, die ersten Laminazellen entstehen einige Stunden später um die Mitte des dritten Stadiums. Alle Ganglienzellkurven zeigen nach 15-20 Std. nach der Pupariumbildung keinen wesentlichen Anstieg mehr. Die Unterschiede, die sich aus den Neuroblastenkurven für das Ende der Ganglienzellentstehung bei den einzelnen Ganglien folgern lassen, kommen wegen des flachen Verlaufs in den Ganglienzellkurven nicht zum Ausdruck.

Die Zahl der Ganglienzellen steigt in einer schwach sigmoiden Form an. Abgesehen von der Anfangs- und Schlußphase

nähert sich die Kurve einem linearen Anstieg. In dieser Phase beträgt die Zunahme der Zellen ca. 640/Std. für die Medulla, ca. 240/Std. für die Zellen aus der inneren optischen Anlage und ca. 120/Std. für die Lamina. Für das Ende der Proliferationsphase ergibt sich für die Medulla eine Zahl von ca. 40 000 Zellen, für die Lamina von ca. 6 500 und für die Zellen aus der inneren Anlage von ca. 14 000.

3.2.4. Zelltod während der Entwicklung der optischen Ganglien

Zelltod tritt im Lauf der Entwicklung der optischen Ganglien im Zusammenhang mit der Proliferation und der Differenzierung auf. Histologisch sind degenerierende Zellen nach Einbettung in Durcupan und Anfärbung mit Methylenblau/Toluidinblau durch ihre außerordentlich intensive Färbung und ihre meist tropfenartig abgerundete Form zu erkennen.

Im Bereich der Proliferationszonen der optischen Anlagen treten degenerierende Zellen immer dann auf, wenn die Proliferationsfähigkeit kurz vor ihrem Abschluß steht und die Anlagen sich völlig auflösen. Bei der medialen Proliferationszone der äußeren Anlage ist dies etwa 20 Std. nach der Pupariumbildung der Fall. Zu diesem Zeitpunkt finden sich am äußeren Rand des Medullakortex, nahe an der Grenze zur Lamina, und manchmal auch in unmittelbarer Nähe der noch verbliebenen Neuroblasten für die andauernde Proliferation der Lamina degenerierende Zellen (vgl. Abb. 16c). Bei der Proliferationszone, aus der die Lamina gebildet wird, und im Fall der Proliferationszone der inneren Anlage treten die degenerierenden Zellen etwas später, 25-30 Std. nach der Pupariumbildung, auf. Degenerierende Zellen an der Stelle der Proliferationszone der inneren optischen Anlage sind in Abb. 16b dargestellt. Aus den histologischen Präparaten geht nicht hervor, um welchen Zelltyp es sich bei den degenerierenden Zellen handelt. Es kämen die letzten Neuro-

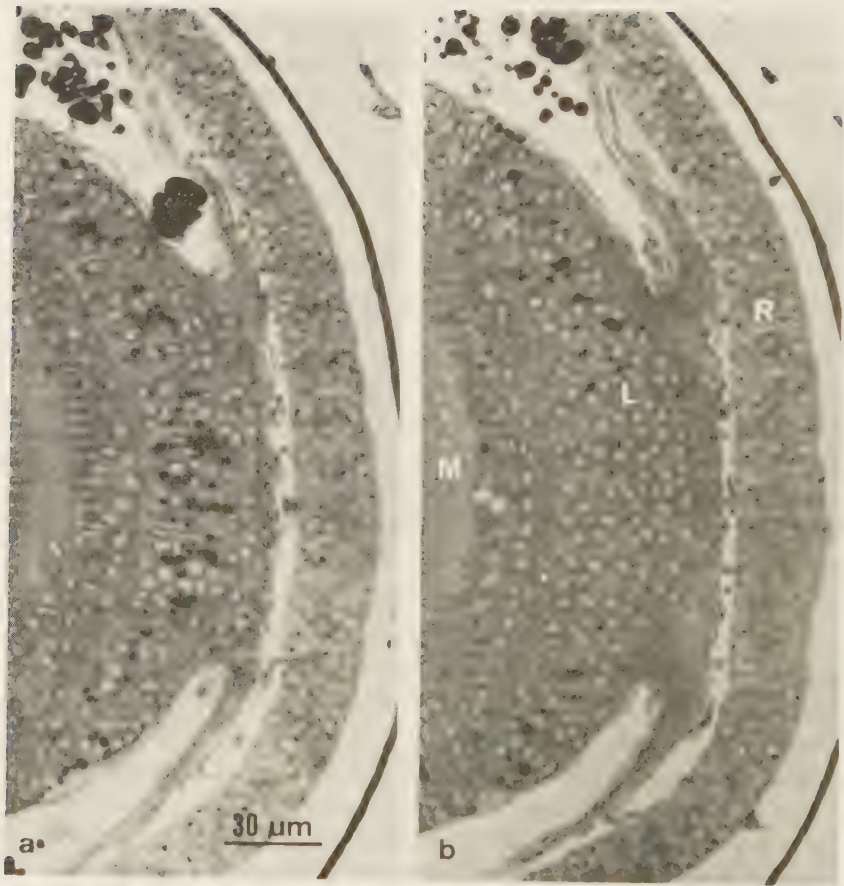


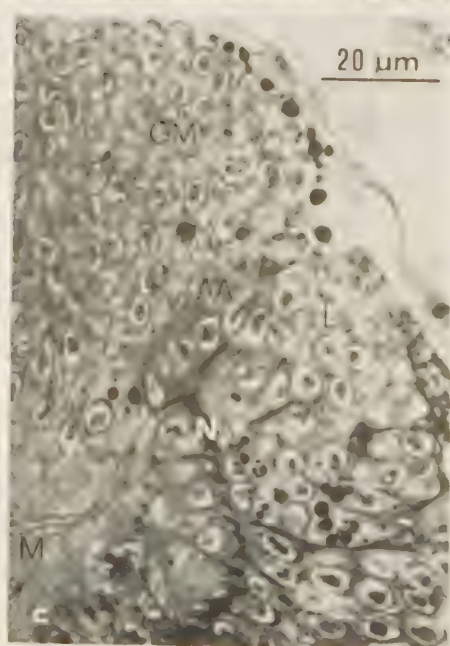
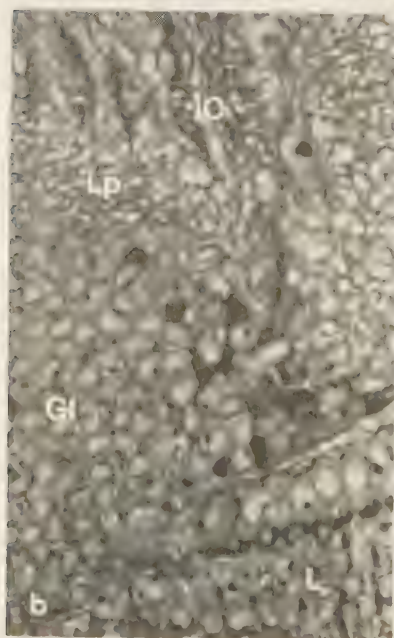
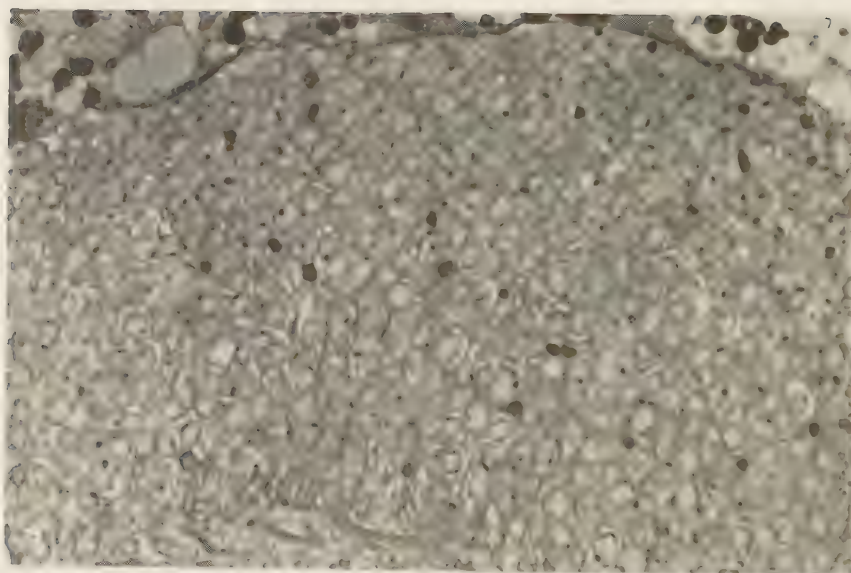
Abb. 15: Zelldegeneration im Kortex der Lamina. Die degenerierenden Zellen sind an ihrer sehr starken Färbung zu erkennen. a) und b) sind zwei Schnitte aus einer frontalen Schnittserie durch die Lamina einer Puppe, 25 Std. nach Pupariumbildung. Schnitt a) liegt im Bereich der vertikalen Degenerationsbänder in der Lamina, Schnitt b) liegt 10-15 µm weiter posterior und außerhalb der Degenerationsbänder. Die degenerierenden Zellen in b) im oberen und unteren Bereich der Lamina sind darauf zurückzuführen, daß die Lamina in diesem Entwicklungsstadium noch leicht gekrümmt ist.
L Lamina; M Neuropil der Medulla; R Retina.

blasten der Anlagen, Ganglienmutterzellen oder Ganglienzellen in Frage. Der Zeitraum, innerhalb dessen degenerierende Zellen an einer Proliferationszone beobachtet werden können, sollte im Bereich von 10-15 Std. liegen. Eine genaue Angabe ist nicht möglich, da dazu die zeitlichen Abstände zwischen den untersuchten Entwicklungsstadien zu groß sind. Deshalb, und weil nicht bekannt ist, innerhalb welchen Zeitraums eine degenerierende Zelle histologisch als solche erkennbar ist, sind auch quantitative Abschätzungen wenig aussagekräftig.

Zelltod tritt, abgesehen von den Proliferationszonen, auch innerhalb der Zellkörperbereiche der einzelnen Ganglien auf, und zwar zu einem Zeitpunkt, zu dem sich zumindest ein Teil der Ganglienzellen bereits in der Phase ihrer Differenzierung befindet. Am deutlichsten ist dieser Vorgang in der Lamina zu beobachten.

Im Verlauf der Entwicklung zieht eine eng begrenzte Welle von Zelltod durch den Kortex der Lamina in Richtung von posterior nach anterior. Die ersten degenerierenden Zellen werden etwa zur Zeit der Pupariumbildung am hinteren Rand der Lamina sichtbar (vgl. Abb. 25). 20 Std. nach der Pupariumbildung befindet sich die Degenerationszone in der vorderen Hälfte der Lamina (vgl. Abb. 16c) und dürfte ca. 30 Std. nach der Pupariumbildung nahe dem vorderen Laminarand lokalisiert sein. Spätestens 43 Std. nach der Pupariumbildung sind in der Lamina keine degenerierenden Zellen mehr nachzuweisen. Die degenerierenden Zellen sind auf einen sehr schmalen Bereich innerhalb des Laminakortex beschränkt. Die Zone umfaßt etwa 3-5 Vertikalreihen von Monopolarzellen; auf die Lamina der adulten Fliege bezogen entspricht dies 3-5 Vertikalreihen von Cartridges. Außerhalb dieser schmalen Zone ist kein nennenswerter Zelltod sichtbar (vgl. Abb. 15, 16c).

Durch die Beschränkung des Zelltodes auf eine definierte Zone innerhalb der Zellkörperschicht wird im Fall der La-



mina eine grobe quantitative Abschätzung des Anteils der degenerierenden Zellen möglich. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß eine degenerierende Zelle zu mehreren Partikeln im histologischen Bild führen kann, ergab die Auszählung der degenerierenden Zellen innerhalb der Degenerationsbände bei einem Beispiel einen Anteil von ca. 16% an der Gesamtzahl der Laminazellen. Da die Degenerationszone im Lauf der Entwicklung über die gesamte Lamina zieht, würde das bedeuten, daß der entsprechende Anteil an der Gesamtzahl der entstandenen Laminazellen während der Entwicklung degeneriert. Die Zahl bezieht sich jedoch nur auf die Auszählung eines Beispiels und kann deshalb nur ein grober Anhaltswert sein.

In der Zellkörperschicht der übrigen Ganglien ist eine vergleichbar eng lokalisierte Zone degenerierender Zellen nicht sichtbar. Schon während der Proliferationsphase und bis in die Pupalentwicklung hinein finden sich jedoch in diesen Bereichen verstreut degenerierende Zellen, wobei der Anteil

Abb. 16: Zelltod während der Entwicklung in den optischen Ganglien. Die degenerierenden Zellen sind an ihrer besonders starken Anfärbung zu erkennen; sie erscheinen auf den Abbildungen als schwarze, tropfenartige Gebilde.

Abb. 16a: Ausschnitt aus dem Medullakortex einer Puppe 29 Std. nach der Pupariumbildung mit verstreuten degenerierenden Zellen.

Abb. 16b: Degenerierende Zellen an der Stelle der aufgelösten Proliferationszone der inneren optischen Anlage 29 Std. nach Pupariumbildung. Die Anordnung der Ganglien zueinander ist vergleichbar zu der in Abb. 6a.

Abb. 16c: Grenzbereich zwischen Medulla und Lamina im Gehirn einer Puppe, 20 Std. nach Pupariumbildung. Die äußere optische Anlage ist bis auf einen Rest, der der Lamina zuzuordnen ist, aufgelöst. Am äußeren Rand des jüngsten Teils des Medullakortex und in unmittelbarer Nähe der Anlage befinden sich degenerierende Zellen. Die Lamina ist horizontal angeschnitten und zeigt die schmale Degenerationsbände. Der Abbildungsmaßstab ist in a)-c) gleich.

AA äußere optische Anlage; GI Ganglienzellen aus der Proliferationszone der inneren optischen Anlage; GM Ganglienzellen der Medulla, Medullakortex; iC inneres Chiasma; l Lamina; Lp Neuropil der Lobula plate; M Neuropil der Medulla; N Neuropilschicht innerhalb der Lamina.

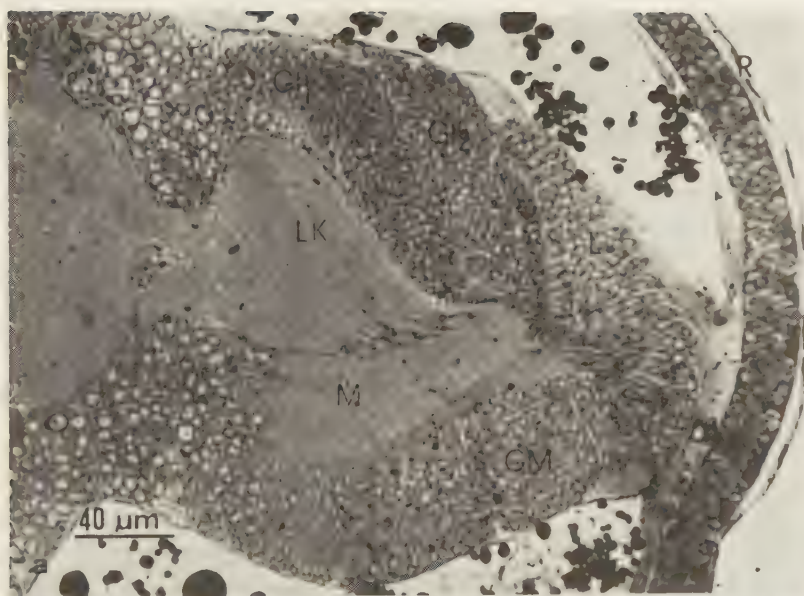
der Zelldegeneration in der Medulla höher zu sein scheint als in Lobula und Lobula plate (vgl. Abb. 16a). Auf den einzelnen Semidünnschnitten ist der Anteil der degenerierenden Zellen jeweils recht gering. Die Erscheinungsform der Zelldegeneration in der Lamina läßt vermuten, daß degenerierende Zellen nur während einer kurzen Zeitspanne histologisch als solche erkannt werden können. Die geringe Anzahl gleichzeitig degenerierender Zellen in den Zellkörperbereichen von Medulla und Lobula-Komplex kann deshalb nicht dahingehend interpretiert werden, daß der Zelltod in diesen Ganglien nur eine geringe Rolle spielt. Zellzählungen degenerierender Zellen in Abhängigkeit von den Entwicklungsstadien wurden nicht vorgenommen.

3.2.5. Lokalisation pulsmarkierter Zellen in Puppe und Imago

Nach einer Injektion von ^3H -Thymidin und einer darauffolgenden längeren Überlebenszeit bleibt das radioaktive Thymidin nur in den Zellen in größerer Konzentration erhalten, die sich nach dem Einbau des radioaktiven Materials nur noch einmal oder einigemal geteilt haben. In allen übrigen Zellen, die das ^3H -Thymidin aufgenommen haben, wird es durch die folgenden Teilungen wieder so weit verdünnt, daß es in

Abb. 17: Autoradiographie eines pupalen Gehirns 27 Std. nach Pupariumbildung nach einer Injektion von ^3H -Thymidin 5 Std. vor der Pupariumbildung. In b) ist dasselbe Präparat und derselbe Ausschnitt wie in a) in einer Dunkelfeld-Aufnahme wiedergegeben. Dadurch werden die Markierungsbanden der Medulla und im Bereich der Zellen aus der inneren optischen Anlage sichtbar. Die Markierungsbande der Lamina ist schräg angeschnitten, die markierten Zellen erscheinen dadurch zerstreut angeordnet.

GI₁ mediale Zellgruppe aus der inneren optischen Anlage;
GI₂ distale Zellgruppe aus der inneren optischen Anlage;
(GI₁ und GI₂ sind die Gruppen des ursprünglich zentral gelegenen Zellpfropfs aus der inneren Anlage, vgl. Abb.4)
GM Zellkörperschicht der Medulla; L Lamina; LK Neuropil des Lobula-Komplexes; M Neuropil der Medulla; R Retina.



der späteren Autoradiographie keine Markierung der Zellkerne mehr zur Folge hat. Die Identifizierung der markierten Zellen im Gehirn der Puppe oder der Imago läßt so den Zusammenhang zwischen Entstehungszeit und räumlicher Anordnung der Zellen erkennen.

3.2.5.1. Markierungsmuster im pupalen Gehirn nach einem ^3H -Thymidinpuls zur Zeit der Zellproliferation

Nach einer Injektion von ^3H -Thymidin zur Zeit der Zellproliferation im Bereich der optischen Ganglien und die darauf folgende autoradiographische Untersuchung des pupalen Gehirns nach Beendigung der Zellproliferation zeigt ein charakteristisches Muster in der Verteilung der markierten Zellen. Die markierten Zellen sind in bandenförmigen Bereichen zusammengefaßt, wobei jede Bande einer der Proliferationszonen des dritten Larvenstadiums bzw. des frühen Puppenstadiums zugeordnet werden kann. So wird je eine Markierungsbande im Kortex der Lamina, der Medulla, der medialen und der distalen Zellgruppe aus der inneren Anlage sichtbar. Im Fall der Lobula ist es schwierig, die markierten Zellen in einem räumlichen Muster einzuordnen. Bei den Markierungsbanden handelt es sich um dieselben, die bereits im larvalen Gehirn nach längerer Überlebenszeit sichtbar wurden (vgl. Abb. 12b).

Ein besonders günstiges Entwicklungsstadium für die Untersuchung der Lage der Markierungsbanden im Gehirn der Puppe ist die Zeit nach der Öffnung der Medulla im dorso-caudalen Bereich der Hemisphäre und vor der Drehung der Medulla

Abb. 18: Autoradiographie des visuellen Systems im Gehirn der Imago nach einer ^3H -Thymidin-Injektion im ersten Drittel des dritten Larvenstadiums. Die schwache Markierung über der Lobula plate, der distalen Zellgruppe zwischen Lobula plate und Medulla und über dem Laminakortex ist durch Sternchen gekennzeichnet.

L Lamina; Lo Lobula; Lp Lobula plate; M Medulla; R Retina.



in die Stellung parallel zur Lamina, also etwa 30 Std. nach der Pupariumbildung. In diesem Entwicklungsstadium ist die Zuordnung der Zellkörperbereiche zu den entsprechenden Neuropilzonen besonders deutlich. Ein Beispiel aus diesem Stadium ist in Abb. 17 wiedergegeben.

Die Lage der Markierungsbanden innerhalb der einzelnen Zellkörperbereiche ist vom Zeitpunkt der ^3H -Thymidininjektion abhängig. Je später die Injektion innerhalb der Zellproliferationsphase erfolgt, umso mehr nähern sich die Banden den Stellen, an denen die Proliferationstätigkeit der Anlagen ihren Abschluß fand. In der Medulla bedeutet dies eine Verlagerung der Markierungsbande von medial nach lateral, ebenso in der medialen und distalen Zellgruppe aus der inneren optischen Anlage. In der Lamina rückt die Markierungsbande bei einem späteren Injektionszeitpunkt mehr nach anterior zur Grenze zwischen Lamina und Medulla.

Die Form und das Ausmaß der Markierungsbanden ist in den einzelnen Ganglien verschieden. In den Zellkörperbereichen der Lobula plate und vor allem der Medulla sind viel mehr Zellen markiert als in der Lamina und der distalen Gruppe der inneren Anlage. Diese Unterschiede spiegeln die unterschiedlichen Zuwachsraten an Ganglienzellen pro Zeiteinheit in den verschiedenen Ganglien wieder. Die stark ausgeprägten Markierungsbanden von Medulla und Lobula plate lassen auch ein charakteristisches Muster in der Markierungsstärke einzelner Zellen erkennen. Die Zellen am medialen Rand der Banden sind deutlich stärker markiert und bilden einen "steilen" Rand der Bande, während die Zellen nach lateral hin immer schwächere Markierung zeigen und die Bande "flach"

Abb. 19: Autoradiographie des visuellen Systems im Gehirn der Imago nach einer ^3H -Thymidin-Injektion ca. 3 Std. vor der Pupariumbildung. Die Markierungsbanden der distalen Zellgruppe zwischen Lobula plate und Medulla und der Lamina sind durch Sternchen gekennzeichnet. Der Pfeil weist auf die schmale hintere Markierungsbande der Retina hin.
L Lamina; Lo Lobula; Lp Lobula plate; M Medulla; R Retina.



auslaufen lassen. Zusammen mit der Verlagerungsrichtung bei späterer Injektion ergibt sich daraus die Abfolge der Zellen innerhalb des Kortex in Abhängigkeit von ihrer Entstehungszeit. Die ältesten Zellen liegen am medialen Rand der Zellkörperschicht, die jüngsten Zellen bilden den lateralen Rand. Innerhalb der Markierungsbande bilden den medialen Rand die Zellen, die zur Zeit der Injektion vor der letzten Mitose standen, während sich unter den Zellen im mehr lateralen Bereich auch Zellen befinden, die sich nach dem Einbau des radioaktiven Thymidins noch mehrmals geteilt haben. Die Markierungsbanden der Medulla und der Lobula plate in Abb. 17 scheinen darüber hinaus anzudeuten, daß ein Altersgefälle auch in Richtung senkrecht zur Neuropilstruktur besteht, daß Zellen rechtwinklig über einem bestimmten Teil des Neuropils älter sind, wenn sie direkt über der Neuropilzone liegen, als wenn sie zum Perineurium der Hemisphäre hin gelegen sind. Ob dem allerdings eine Altersabfolge innerhalb der Zellgruppe z.B. einer Säule der Medulla entspricht, läßt sich ohne nähere Untersuchung des Faserverlaufs nicht klären.

Im speziellen Fall der Lamina ist es im pupalen Entwicklungsstadium möglich, verschiedene Zelltypen histologisch zu unterscheiden und ihr Markierungsmuster getrennt zu untersuchen. 40 Std. nach der Pupariumbildung ist die Lamina bereits aus der Hemisphäre herausgelöst und der Neuropilanteil ist im lichtmikroskopischen Bild deutlich von der Zellkörperschicht zu unterscheiden (vgl. Abb. 12c). Die meisten Zellkörper liegen distal zum Neuropil, zwischen dem Laminaneuropil und der sich entwickelnden Retina. Dabei lassen sich zwei Typen von Zellen unterscheiden. Die Mehrzahl der Zellen zeigt gut angefärbte Kerne mit deutlichen Konturen, während ein anderer Zelltyp sehr helle Kerne mit diffusem Rand aufweist. Der letztere Typ findet sich ausschließlich in unmittelbarer Nähe des Neuropils, sowohl an dessen distaler und medialer Fläche. Die Lage der Zellen und Untersuchungen von Trujillo-Cenóz u. Melamed

(1973) lassen den Schluß zu, daß es sich bei den Zellen mit den schwach angefärbten Kernen um Gliazellen (Satellitenglia und Epithelialzellen), bei den restlichen Zellen um Monopolarzellen handelt.

Bei einer näheren Analyse des Markierungsmusters dieser Zellen zeigt sich, daß die markierten Monopolarzellen zum großen Teil in einer schmalen Markierungsbande zusammengefaßt sind. Außerhalb dieser Bande gibt es markierte Monopolarzellen nur im Laminabereich vor der Bande, nicht jedoch im Bereich hinter der Bande. Das entspricht dem erwarteten Bild einer Markierungsbande, die in Richtung der Proliferation mit zunehmend späterer Injektionszeit sich nach vorne verlagert. Dieses Markierungsmuster gilt jedoch nicht für die Gliazellen; markierte Kerne dieses Zelltyps sind sowohl vor als auch hinter der Markierungsbande der Monopolarzellen nachzuweisen. Zumindest in der Lamina unterscheiden sich also Ganglienzellen und Gliazellen im zeitlichen Programm ihrer Proliferation.

3.2.5.2. Die Lage der Markierungsbanden im visuellen System der Imago

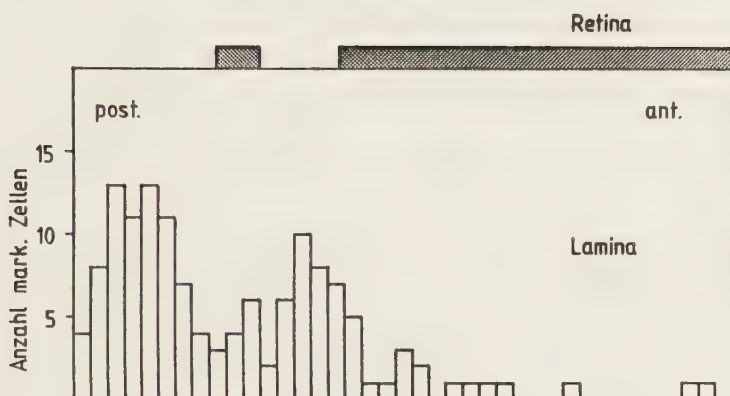
Die Markierungsbanden in den Zellkörperbereichen der optischen Ganglien, die nach einem ^3H -Thymidinpuls im larvalen bzw. pupalen Gehirn nachgewiesen werden können, sind auch in den optischen Ganglien der Imago zu beobachten. Bei einem Vergleich von Autoradiogrammen nach Injektionen von radioaktivem Thymidin zu verschiedenen Zeiten der Ganglienzellproliferation kommt auch hier die Wachstumsrichtung und die Anordnung der Ganglienzellen entsprechend ihrer Entstehungszeit zum Ausdruck (vgl. Abb. 18, 19).

Nach einer ^3H -Thymidininjektion unmittelbar nach der Häutung zum dritten Larvenstadium sind im Bereich der optischen Ganglien der Imago nur wenige Zellen markiert. Alle diese Zellen liegen im Grenzbereich zwischen dem Vorderrand der Medulla und dem nichtoptischen Gehirn der Fliege. Es handelt

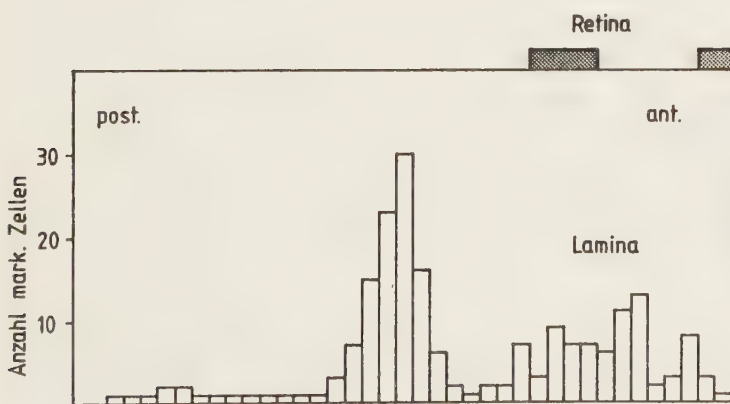
sich dabei um eine Zellgruppe, die zum Medullakortex gehört, sich aber von der Masse der Medullazellen um das äußere Chiasma durch etwas größere Zellkörper unterscheidet und auf den vordersten Bereich des Medullakortex beschränkt ist. Spätere Injektionen, etwa 80 Std. nach Eiablage haben dann auch eine Markierung der Medullazellen, die um das äußere Chiasma herum angeordnet sind, zur Folge. Zuerst sind diese Zellen auf den Bereich vor dem Chiasma beschränkt, mit zunehmend späteren Injektionen greift die Markierung mehr und mehr auf die Zellen hinter dem Chiasma über. Nach Injektionen zur Zeit der Pupariumbildung befinden sich bereits alle markierten Ganglienzellen posterior zum äußeren Chiasma. Außerhalb der Markierungsbande in der Medulla finden sich manchmal einzelne, dunkel angefärbte Zellen mit unregelmäßigem Umriß, die starke Markierung zeigen. Bei diesen Zellen dürfte es sich um Gliazellen (Glia III) handeln. Da diese Zellen möglicherweise polyploid sind, ist aus der Markierung nicht auf ihre Entstehungszeit zurückzuschließen (Nordlander u. Edwards, 1969a).

In der Lamina treten die ersten markierten Zellen nach In-

Abb. 20: Zusammenhang zwischen dem Markierungsmuster der Retina und der Lamina. Der Darstellung liegt die Auswertung von Autoradiogrammen des imaginalen Gehirns nach einer ³H-Thymidininjektion um die Mitte (a) bzw. am Ende (b) des dritten Larvenstadiums zugrunde. Ausgewertet wurden Horizontalschnitte durch das visuelle System. Die Schnitte durch den oberen und unteren Teil von Lamina bzw. Retina, in denen der Abstand zwischen hinterem und vorderem Augenrand bzw. Laminaneuropil nicht konstant ist, wurden nicht verwendet. Die Abbildung zeigt die antero-posteriore Ausdehnung von Retina und Lamina in willkürlichen Einheiten. Für die Retina ist die Existenz markierter Zellen durch die schattierten Bereiche dargestellt, für die Lamina ist die Anzahl markierter Zellen über der räumlichen Ausdehnung aufgetragen. Zwischen Monopolarzellen und Gliazellen wurde nicht unterschieden. In beiden untersuchten Fällen ergeben sich zwei Maxima in der Markierung der Lamina, die in räumlicher Beziehung zur Markierungsverteilung in der Retina stehen.



a



b

jektionen etwa 80 Std. nach Eiablage auf. Sie befinden sich im Bereich des hinteren Laminakortex. Bei späteren Injektionen verschiebt sich der Markierungsbereich mehr und mehr nach vorne, bis ab einer Injektionszeit von 90 Std. nach Eiablage am hinteren Rand der Lamina eine neue Markierungsbande sichtbar wird. Von diesem Zeitpunkt an sind in der Verteilung der markierten Laminazellen zwei Maxima zu beobachten, die sich beide im Verlauf der weiteren Entwicklung von posterior nach anterior verschieben. Nach Injektionen zur Zeit der Pupariumbildung befindet sich die hintere Markierungsbande ziemlich genau in der Mitte der Lamina (vgl. Abb. 19). Die hintere Markierungsbande enthält meist mehr markierte Zellen, sie ist schmaler, und die Zellen in ihrem Bereich zeigen im Durchschnitt eine stärkere Markierung als die Zellen der vorderen Bande. Die Markierungsstärke bezieht sich allerdings ausdrücklich auf Durchschnittswerte, einzelne Zellen können durchaus auch in der vorderen Bande besonders stark markiert sein. Neben diesen Banden finden sich im gesamten Bereich der Lamina immer einige markierte Zellen, die klar außerhalb der Markierungsbanden liegen. In der Imago sind durch die enge Anordnung der Zellen zwischen Retina und Cartridges nur schwer einzelne Zelltypen zu unterscheiden, aber aus den Ergebnissen bei der autoradiographischen Untersuchung der pupalen Lamina läßt sich schließen, daß es sich bei diesen Zellen außerhalb der Banden um Gliazellen handelt.

In der Zellkörperschicht der Lobula plate sind nach Injektionen ab 80 Std. nach Eiablage markierte Zellen sichtbar. Sie finden sich zuerst im medialsten Bereich des Kortex und rücken nach späteren Injektionen nach lateral. Nach Injektionen zur Zeit der Pupariumbildung befinden sich die markierten Zellen im mittleren Bereich über dem Neuropil der Lobula plate. Wie in der Puppe ist die Markierungsstärke innerhalb der Bande asymmetrisch verteilt, der "steile" Rand der Bande weist nach medial.

Die Zellgruppe, die aus der inneren Anlage nach distal abgegeben wird (Gl_2 in Abb. 4), liegt in der Imago in einer schmalen Zone zwischen der Zellkörperschicht der Lobula plate und dem hinteren Rand der Medulla. Die ersten markierten Zellen treten hier zur gleichen Zeit auf wie im Kortex der Lobula plate. Bei späterer Injektion verschiebt sich die Markierungszone nach lateral zur Medulla hin, also in dieselbe Richtung wie die Markierungsbande der Lobula plate.

Die Zellen der Lobula liegen in der Imago ventral in der Nachbarschaft des dazugehörigen Neuropils. Die Anzahl dieser Zellen ist geringer als bei den übrigen Ganglien, nach einem 3H -Thymidinpuls sind deshalb nur wenige Zellen markiert. Im Gegensatz zu den restlichen Ganglien ist es nicht gelungen, den Zusammenhang zwischen der Entstehungszeit und der anatomischen Anordnung für die Zellen der Lobula eindeutig zu beschreiben.

Die anatomische Lage von Retina und Lamina ermöglicht einen direkten Vergleich des Markierungsmusters in diesen beiden Teilen des visuellen Systems der Fliege nach einem 3H -Thymidinpuls während der Entstehungszeit der Retinazellen und der Ganglienzellen. In der Retina sind nach einem solchen Puls zwei voneinander getrennte Markierungszonen zu unterscheiden, eine breite Zone im anterioren Teil des Auges und eine schmale Markierungsbande, die weiter posterior liegt und von der breiten Zone durch einige Vertikalreihen von Ommatidien getrennt ist, die keine markierte Zellen enthalten. Diese Markierungszonen sind mit bestimmten Differenzierungsschritten bei der Entstehung der Ommatidien zu korrelieren (Ready et al., 1976; Campos-Ortega u. Hofbauer, 1977). Je später die Injektion erfolgt, umso weiter verlagern sich die Zonen nach vorne; die breite Zone wird dadurch schmaler (vgl. Abb. 20). Wenn man das Markierungsmuster nach einem Puls von radioaktivem Thymidin in der Retina und der Lamina miteinander vergleicht, zeigt sich,

daß die Markierungsmaxima, die in der Lamina beobachtet werden, in einer festen anatomischen Beziehung zu den Markierungszonen in der Retina stehen (vgl. Abb. 20). Das vordere Maximum in der Lamina liegt zwischen den beiden Markierungszonen der Retina, das hintere Maximum hinter der schmalen Markierungsbande. Diese Beziehung bleibt im Lauf der Entwicklung erhalten, die Banden in der Retina und der Lamina "bewegen" sich mit gleicher Geschwindigkeit. Für die Entwicklung bedeutet das, daß es einen bestimmten Zeitabstand zwischen der Entstehung der Rezeptorzellen in der Retina und der Entstehung der Laminazellen gibt, mit denen diese Rezeptorzellen später sich verknüpfen werden. Der räumliche Abstand zwischen der schmalen Markierungszone der Retina und der hinteren Markierungsbande der Lamina beträgt etwa 7 Ommatidienreihen (vgl. Abb. 19). Wenn man annimmt, daß eine Ommatidienreihe mit etwa 2 Std. Entwicklungszeit gleichzusetzen ist (Campos-Ortega u. Hofbauer, 1977), ergibt sich daraus ein zeitlicher Abstand in der Größenordnung von 15 Std..

3.3. Die Differenzierung der Faserzonen der optischen Ganglien

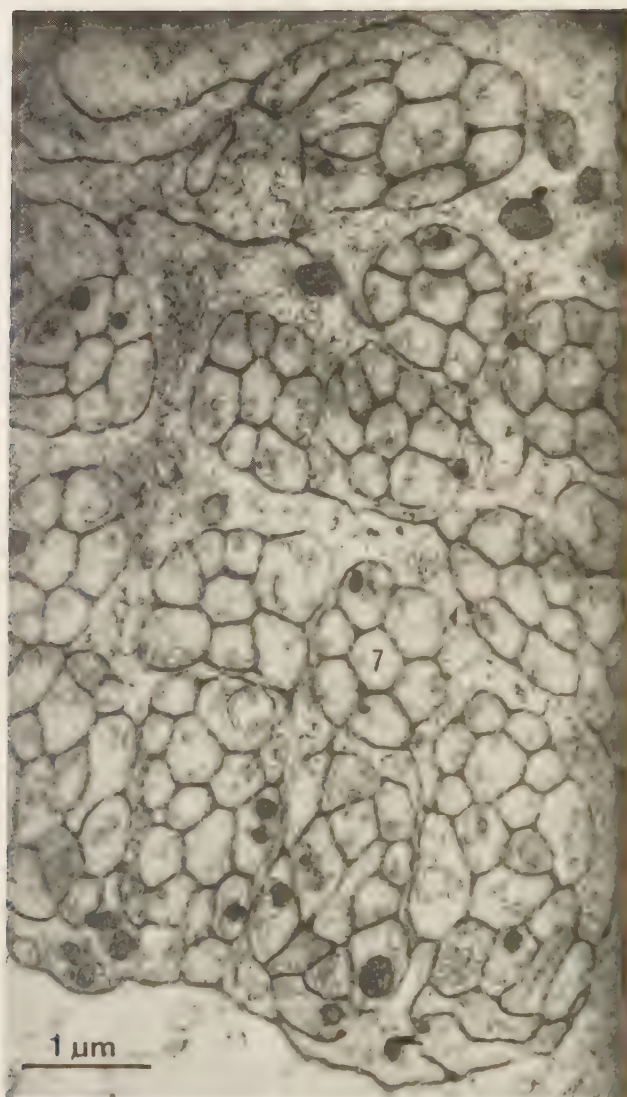
Die Ganglienzellen beginnen bereits bald nach ihrer Entstehung mit ihrer Differenzierung. Sie bilden Nervenfasern und beteiligen sich am Aufbau bestimmter Faserzonen. Die Differenzierung der zuerst gebildeten Ganglienzellen fällt dabei in ein Entwicklungsstadium, in dem die Proliferations-tätigkeit der Anlagen noch im vollen Gange ist. Proliferat-ion und Differenzierung der optischen Ganglien greifen also zeitlich gesehen weit ineinander.

Die Darstellung der einzelnen Differenzierungsbereiche erfolgt in der Reihenfolge der Verknüpfungszonen im adulten System, ausgehend von der Retina zur Lamina, der Medulla und dem Lobula-Komplex.

3.3.1. Die Organisation der Retinaaxone beim Auswachsen aus der Augenimaginalscheibe

Die Differenzierung der Retina erfolgt in einer zeitlichen Abfolge von hinten nach vorne. Die Ommatidien der vertikalen Ommatidienreihe des hinteren Augenrandes differenzieren sich als erste, die des vorderen Augenrandes bilden den Abschluß. Die Differenzierung der einzelnen Ommatidien erfolgt dabei in zwei Abschnitten. Es entsteht erst eine Vorstufe, die fünf Rezeptorzellen enthält und die in einem darauf folgenden Entwicklungsschritt auf den endgültigen Satz von acht Rezeptorzellen aufgefüllt wird (Ready et al., 1976). Der Sequenz der Ommatidiendifferenzierung entspricht eine ebensolche Reihenfolge im Auswachsen der Retinaaxone. Die ersten Bündel von Retinaaxonen, die aus der Augenimaginalscheibe durch den optischen Stiel zum larvalen Gehirn wachsen, stammen aus den Ommatidien des hinteren Augenrandes. Ihnen folgen die Fasern aus den jeweils nach vorne folgenden Ommatidien, bis schließlich die Axone aus den Ommatidien des vorderen Augenrandes die Verbindung zwischen Retina und Gehirn vervollständigen.

Im differenzierten Teil der Augenimaginalscheibe und im optischen Stiel sind die Retinaaxone in einer räumlichen Abfolge angeordnet, die die zeitliche Reihenfolge ihres Wachstums wiedergibt. In der Scheibe sind dabei die zuletzt ausgewachsenen Fasern am weitesten von der Zellschicht entfernt (vgl. Abb. 21), im optischen Stiel entspricht der zeitlichen Abfolge eine Anordnung in postero-anteriorer Richtung. Die Axone sind dabei in Bündel zusammengefaßt, die den einzelnen Ommatidien entsprechen und die durch Gliazellen voneinander getrennt sind. Diese Bündel enthalten fast durchwegs acht Rezeptorzellaxone, nur in Ausnahmefällen sind es nur sieben Axone. Dazu kommt im Bereich der zuletzt ausgewachsenen Fasern eine Zone, in der eine größere, unregelmäßige Anzahl von Axonprofilen zu Bündeln zusammengefaßt sind (vgl. Abb. 21). Die Anordnung dieser großen Bündel



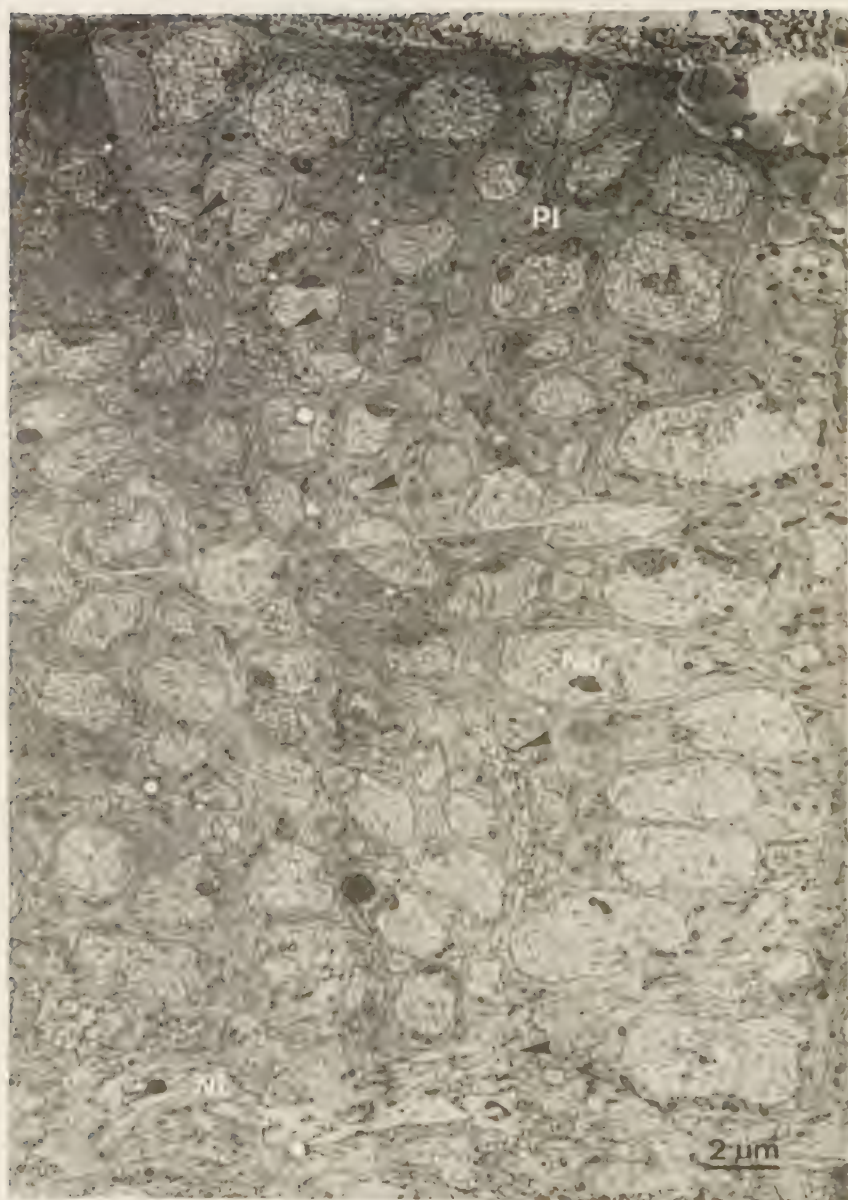
läßt darauf schließen, daß sie Fasern aus Ommatidien jeweils einer Horizontalreihe, aber zwei oder mehrerer Vertikalreihen der Retina enthalten.

Es konnten im optischen Stiel und im posterioren Bereich der Augenimaginalscheibe keine Faserbündel beobachtet werden, die weniger als sieben Axonprofile enthalten hätten und damit eindeutig eine Staffelung im Wachstum der Axone aus einem Ommatidium bewiesen hätten. Dieselbe Situation ergibt sich im wesentlichen bei einer Untersuchung des Bereiches der Augenimaginalscheibe, aus der die jüngsten Axone entspringen. Nur ganz vereinzelt wurden in diesem Bereich Gruppen von Axonen sichtbar, die nur fünf Profile enthielten. Auch hier sind die neu auswachsenden Rezeptorzellaxone nicht durch Glia voneinander getrennt und deshalb nicht einzelnen Ommatidien zuzuordnen. Sobald man nach posterior in einen Bereich der Augenscheibe kommt, in dem getrennte Bündel auftreten, enthalten sie acht oder zumindest sieben Profile; es ergibt sich somit ein Bild, wie es oben beschrieben wurde.

3.3.2. Die Differenzierung der Lamina

Der Beginn der Proliferation und der Differenzierung der Ganglienzellen in der Lamina fällt zeitlich zusammen mit dem Einwachsen der ersten Rezeptoraxone aus der Augenimaginalscheibe in das larvale Gehirn. Die Axonbündel der Vertikalreihe am hinteren Augenrand sind dabei in der glei-

Abb. 21: Rezeptoraxone im posterioren Bereich der Augenimaginalscheibe kurz vor dem Eintritt in den optischen Stiel. Die Retinazellschicht der Scheibe schließt am oberen Bildrand an. Der zeitlichen Reihenfolge des Faserwachstums entspricht die räumliche Anordnung vom oberen Bildrand zum unteren. Im oberen Bildteil sind alle Axone in Bündel mit acht Axonen zusammengefaßt, ein Bündel enthält nur sieben Axone (7). Im unteren Bildteil sind vier nebeneinander angeordnete Bündel mit erheblich mehr als acht Faserprofilen zu erkennen. Sie enthalten die zuletzt ausgewachsenen Retinaaxone.



chen Anordnung wie in der Retina entlang des lateralen Randes der äußeren optischen Anlage aufgereiht, wobei die Bündel aus der horizontalen Mitte der Retina, der Äquatorregion, unmittelbar dem larvalen Nerv des optischen Stiels benachbart sind. Die Axonbündel aus den nach vorne anschließenden Vertikalreihen der Retina wachsen im Verlauf der weiteren Entwicklung jeweils zwischen den Faserbündeln ihrer posterioren Nachbarn in der Retina und der Proliferationszone der äußeren Anlage in die Lamina ein. Daraus ergibt sich zusammen mit der laufenden Entstehung von neuen Ganglienzellen der Lamina ein Wachstum vom larvalen Nerv des optischen Stiels weg in antero-ventrale Richtung zum Rand der äußeren Anlage (vgl. Anordnung in Abb. 4a). Durch diesen Mechanismus wird die Anordnung der Ommatidien in der Retina im Muster der einwachsenden Faserbündel in der Lamina abgebildet.

Die Axonbündel der vordersten Reihe in der Lamina, unmittelbar am Rand zur Proliferationszone der äußeren optischen Anlage, nehmen eine Sonderstellung unter den Faserbündeln aus der Retina in der Lamina ein. Sie zeigen eine unregelmäßige Anzahl von Profilen, die jedoch meist deutlich größer als acht ist (vgl. Abb. 23a). Sie entsprechen den großen Bündeln

Abb. 22: Vorderer Laminabereich einer Larve zur Zeit der Pupariumbildung. Die Abbildung ist aus mehreren elektronenmikroskopischen Aufnahmen montiert. In der rechten Bildhälfte ist der der Lamina zugeordnete laterale Teil der äußeren optischen Anlage an den großen Kernen der Neuroblasten zu erkennen. Die Anlage geht in die laterale Proliferationszone der äußeren Anlage über. In der linken Bildhälfte sind Querschnitte von Rezeptorzellbündeln und zwischen ihnen Monopolarzellen der Lamina zu erkennen. Am unteren Bildrand ist ein Teil der dünnen Faserschicht der Lamina angeschnitten, die bis zur äußeren optischen Anlage reicht. Die Pfeile weisen auf Rezeptorzellbündel hin, die zur vordersten Vertikalreihe der zuletzt eingewachsenen Fasern gehören.

Nb Neuroblast der äußeren optischen Anlage; NL Faserschicht der Lamina; Pl laterale Proliferationszone der äußeren optischen Anlage.



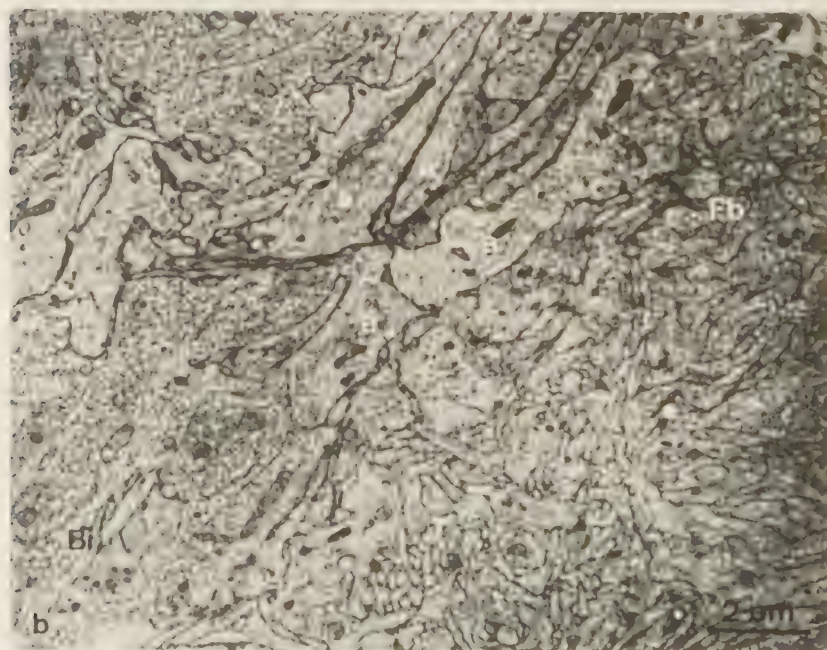
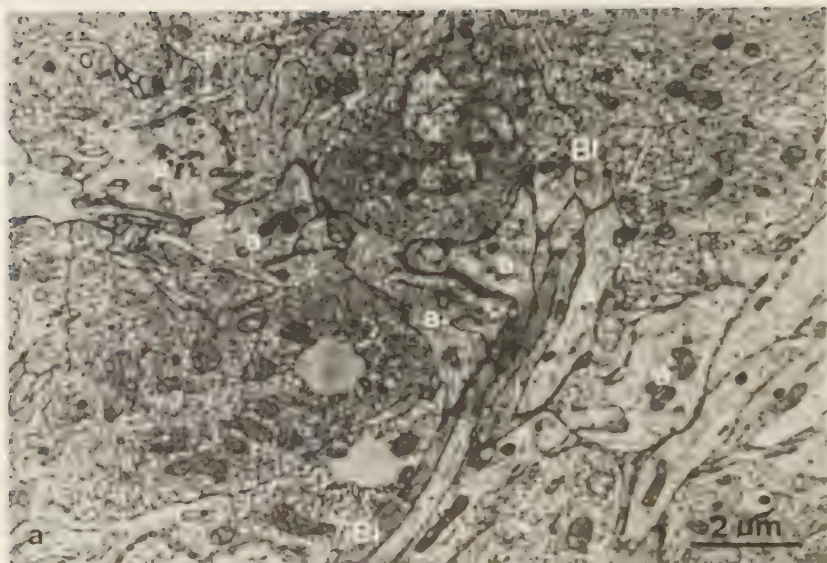
im postmitotischen Bereich der Augenimaginalscheibe, die die zuletzt ausgewachsenen Fasern enthalten (vgl. Abb. 21). Wie dort enthalten auch in der Lamina die ihnen am nächsten benachbarten Bündel normalerweise acht Axone, in manchen Fällen auch nur sieben (vgl. Abb. 23a). Die weiter entfernten Bündel im älteren Teil der Lamina weisen dann jedoch wieder mehr Fasern auf. Die Anzahl der Profile innerhalb eines Bündels steigt dabei mit der Entfernung vom Proliferationsrand kontinuierlich an, bis schließlich die Bündel 13 Fasern enthalten: acht Rezeptorzellaxone und 5 Nervenfasern von den Monopolarzellen einer späteren Cartridge. Zur Zeit der Pupariumbildung ist die vollständige Anzahl von Fasern in den Bündeln in der Nähe des larvalen Nervs des optischen Stiels, also in den zuerst eingewachsenen Bündeln gerade erreicht (vgl. Abb. 23b). Der vollständige Satz von 13 Profilen eines Bündels ist allerdings nur dann sichtbar, wenn die Bündel in unmittelbarer Nähe des Laminaneuropils geschnitten werden. Da die Monopolarzellen in unterschiedlichem Abstand von der Faserschicht der Lamina liegen, nimmt die Anzahl der Fasern eines an sich vollständigen Bündels ab, je weiter sich die Schnittstelle vom Neuropil entfernt und der Eintrittsstelle der Rezeptoraxone in den Laminakortex nähert. An dieser Stelle werden dann nur noch die acht Rezeptorzellaxone getroffen.

Abb. 23: Axonbündel in der Lamina einer Larve zur Zeit der Pupariumbildung

Abb. 23a: Ausschnitt aus der vorderen Front der Lamina mit der ersten Reihe von Axonbündeln aus der Retina (F). Die Bündel enthalten eine unterschiedliche Anzahl von Profilen, meist deutlich mehr als acht. Die Pfeile weisen auf Bündel der nächstälteren Reihe mit jeweils acht Profilen hin.

Abb. 23b: Bündel des hinteren Laminabereiches in der Nachbarschaft des larvalen Nervs des optischen Stiels. Die Bündel enthalten neben acht Rezeptorzellaxonen bis zu fünf Profile von Monopolarzellen.

F Axonbündel aus der vordersten Reihe in der Lamina mit den zuletzt eingewachsenen Rezeptorzellaxonen; GL Ganglienzelle der Lamina (Monopolarzelle); LN larvaler Nerv des optischen Stiels.



Die Fasern der Bündel am vorderen Laminarand bilden vom Zeitpunkt ihrer Ankunft in der Neuropilzone der Lamina an eine zusammenhängende Neuropilschicht. Es gibt in diesem Bereich kein Entwicklungsstadium, in dem die einzelnen Bündel voneinander getrennt wären und erst später miteinander Kontakt aufnehmen würden. Die elektronenmikroskopische Auswertung von Schnittserien ergab, daß bereits in diesem frühen Entwicklungsstadium des Neuropils einzelne Axone Verbindung mit bestimmten benachbarten Faserbündeln besitzen. Es handelt sich dabei um das Auswachsen von Wachstumskolben, nicht um Kontakte durch Filopodien. Zu diesem frühen Zeitpunkt der Differenzierung besitzen die Axone im Neuropilbereich kaum Filopodien (vgl. Abb. 24), diese werden erst im Lauf der weiteren Differenzierung in größerem Ausmaß gebildet.

Bereits in einem sehr frühen Stadium der Neuropildifferenzierung, bereits in den vordersten Bereichen der Lamina, können Faserbündel beobachtet werden, die das Neuropil der

Abb. 24: Ausschnitte aus der Neuropilschicht der Lamina einer Larve zur Zeit der Pupariumbildung.

Abb. 24a: Neuropilschicht der Lamina nahe an der vorderen Grenze der Lamina zur Proliferationszone der äußeren optischen Anlage. Die Zellkörperschicht der Lamina mit den Monopolarzellen schließt sich an den oberen Bildrand an. Die Profile der Axone aus den Faserbündeln zeigen noch kaum Filopodien, bilden jedoch bereits einen durchgehenden Faserbereich. Der Ausschnitt zeigt den Eintritt eines Bündels aus der Zellkörperschicht in die Neuropilzone und Fasern, die die Neuropilzone verlassen und zur Medulla wachsen. Abb. 24b: Der zuletzt gebildete Teil des Laminaneuropils in direktem Kontakt mit den Fasern der sich neu differenzierenden Ganglienzellen des Medullakortex. Zur anatomischen Anordnung vgl. Abb. 25.

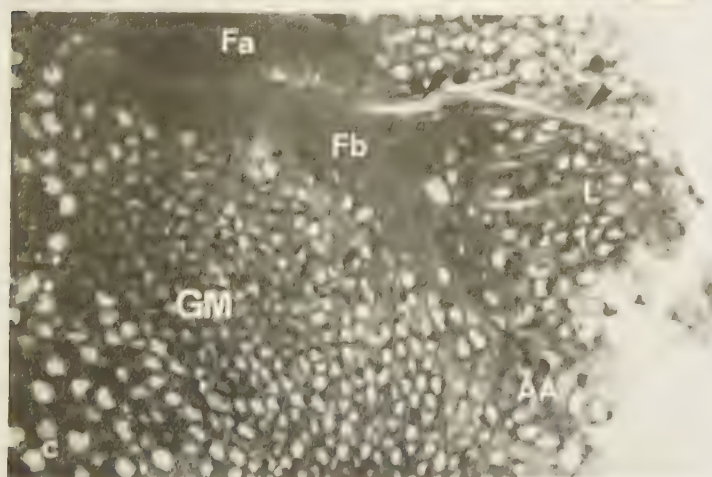
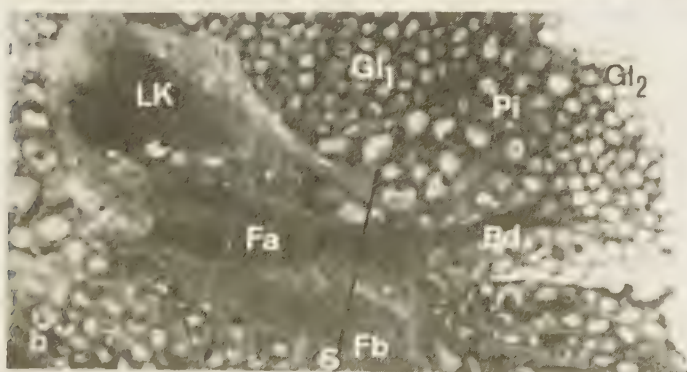
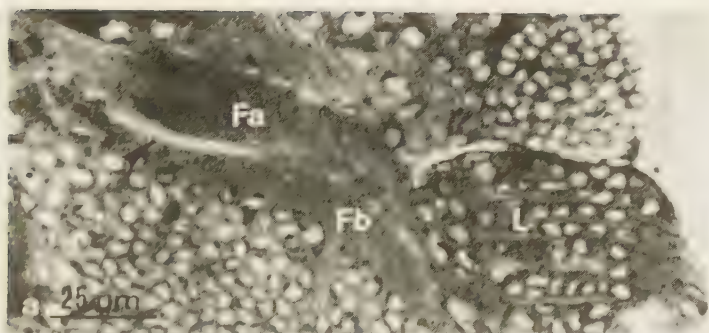
a einige der axonalen Profile in der Neuropilschicht der Lamina. Bei den gekennzeichneten Profilen handelt es sich um Rezeptorzellaxone. Ba Faserbündel des äußeren Chiasmas zwischen Lamina und Medulla; B1 Faserbündel im Bereich des Laminakortex mit Rezeptorzellaxonen der Retina und ersten Monopolarzellausläufern; Fb Faserzone der Medulla zwischen den Bündeln des äußeren Chiasmas und der Zellkörperschicht der Medulla (vgl. Abb. 25).

Lamina verlassen und zum Neuropil der Medulla ziehen. Die Bündel aus dem vordersten Laminabereich enthalten nur etwa vier Fasern, die Bündel aus weiter differenzierten Laminabereichen enthalten umso mehr Fasern, je weiter die Differenzierung fortgeschritten ist. Zur Zeit der Pupariumbildung konnten am hinteren Rand der Lamina Bündel mit bis zu 10 Profilen gefunden werden. Alle diese Bündel sind durch Zellen an der medialen Schicht des Laminaneuropils voneinander getrennt. Diese Zellen dürften den Epithelialzellen der adulten Lamina entsprechen, die die Cartridges voneinander trennen.

3.3.3. Die Differenzierung der Medulla

Die Ganglienzellen, die sich als erste im optischen Bereich differenzieren, gehören zu den Zellen der Medulla. Bereits

Abb. 25: Ausschnitte aus einer frontal geführten Schnittserie durch die optischen Ganglien, 3 Std. nach der Pupariumbildung. In a) und c) ist der durch die schwache Anfärbung erkennbare larvale Nerv des optischen Stiels sichtbar (Pfeile). Er zeigt die anatomische Lage der Faserbündel, die aus der Lamina in die Medulla ziehen. Durch diese Bündel wird der Faserbereich der Medulla in zwei Teile getrennt, von denen ein Teil zum Zentrum der Hemisphäre hin orientiert ist, der andere zwischen die Bündel aus der Lamina und dem Kortex der Medulla zu liegen kommt. Letzterer reicht lateral bis zur äußeren optischen Anlage. In b) ist die Proliferationszone der inneren optischen Anlage mit der daraus entstehenden medialen und distalen Zellgruppe des zentralen Pflorpfes sichtbar. Dabei ist eines der Bündel längs angeschnitten, die aus der distal gelegenen Gruppe zum Neuropil der Medulla führen. Im älteren Teil der Lamina, in der Nähe des larvalen Nerves, sind degenerierende Zellen zu beobachten. AA äußere optische Anlage; Bd Faserbündel aus der distalen Zellgruppe des zentralen Zellpflorpfes; Fa zum Zentrum der Hemisphäre hin gelegener Teil der Faserzone der Medulla; Fb Faserzone der Medulla zwischen den Bündeln aus der Lamina und dem Kortex der Medulla; Gl₁ mediale Zellgruppe aus der inneren optischen Anlage; Gl₂ distale Zellgruppe aus der inneren optischen Anlage; GM Ganglienzellen des Medullakortex; L Lamina; LK Faserbereich des Lobula-Komplexes; Pi Proliferationszone der inneren optischen Anlage; S ungefähre Schnittrichtung in Abb. 26.

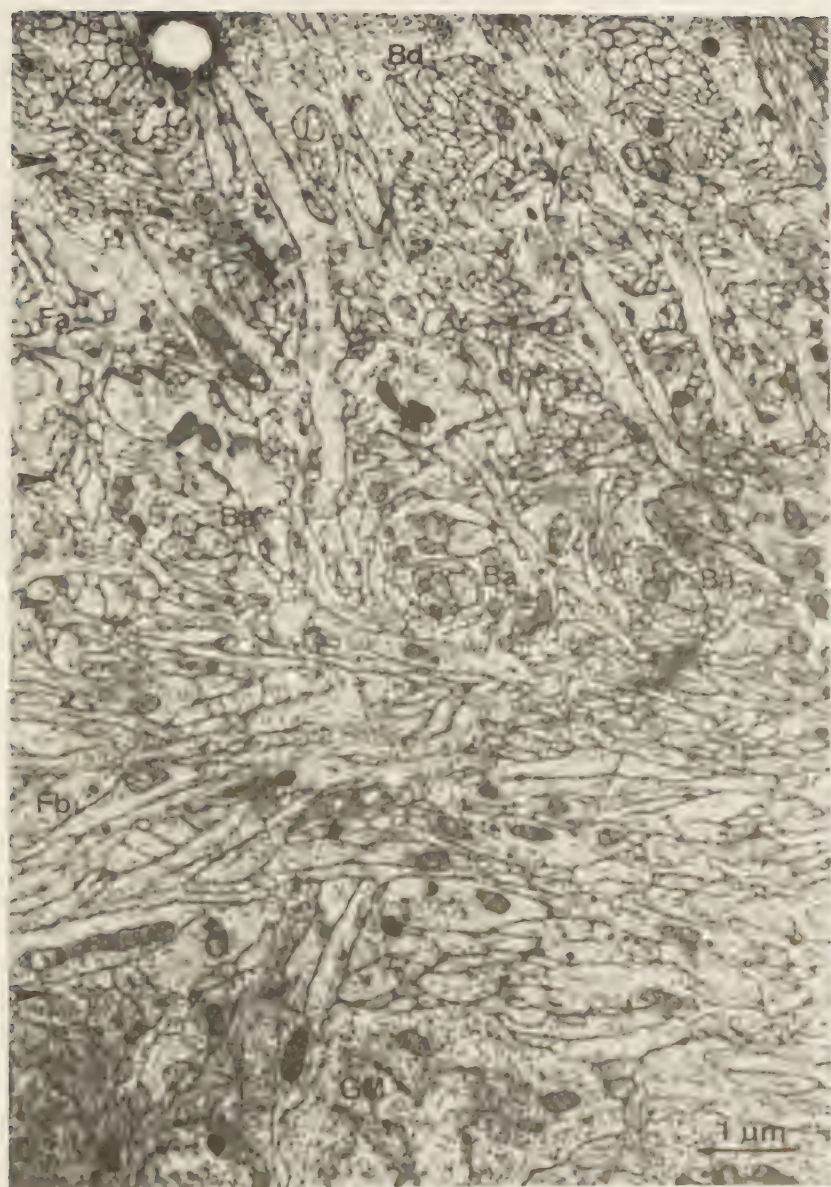


in der ersten Hälfte des dritten Larvenstadiums, wenn die Bildung der Lamina noch nicht begonnen hat, differenziert sich im Medullabereich eine Faserzone unmittelbar rostro-ventral zum larvalen Nerv des optischen Stiels. Es handelt sich dabei um die Nervenfasern der Ganglienzellen, die vor der Hauptmasse der Medullazellen entstehen und später auf den medialsten Bereich des larvalen Medullakortex beschränkt sind. Das Fasergeflecht dieser Zellen besitzt eine Verbindung mit dem zentralen Neuropil der larvalen Hemisphäre, noch bevor die Faserzone des Lobula-Komplexes entwickelt ist.

Diese erste Faserzone im Bereich der optischen Ganglien stellt den Ausgangspunkt für die Bildung des Medullaneuropils dar. Die Fasern der Ganglienzellen des Medullakortex wachsen auf die innere Grenzschicht des Kortex zu und bilden dort das Neuropil der Medulla (vgl. Abb. 4). Die Wachstumsrichtung des Medullaneuropils ist entsprechend der Proliferationsabfolge der Ganglienzellen von medial nach lateral.

Im Gehirn der Larve und der jungen Puppe erscheint die Faserzone der Medulla im lichtmikroskopischen Bild deutlich

Abb. 26: Parasagittalschnitt durch das Medullaneuropil einer Larve zur Zeit der Pupariumbildung. Die Schnittrichtung ist in Abb. 25b angedeutet. Die Pfeile am linken Bildrand deuten die Unterteilung der Faserzone in verschiedene Schichten an. Am oberen Bildrand sind einige Faserbündel aus der distalen Zellgruppe des zentralen Zellpfropfes querschnittsen. Darunter schließt eine Faserschicht mit vielen Wachstumskolben an. Diese Schicht stellt das eigentliche Neuropil der Lamina zu diesem Entwicklungszeitpunkt dar. In der Mitte des Bildes sind die Querschnitte von Faserbündeln aus der Lamina sichtbar; einige von ihnen sind besonders gekennzeichnet. Sie trennen eine weitere Faserzone vom Medullaneuropil, die nur wenige Wachstumskolben zeigt. Am unteren Bildrand wird der Beginn der Zellkörperschicht der Medulla sichtbar. Ba Bündel des äußeren Chiasmas, die aus der Lamina in die Medulla ziehen; Bd Faserbündel der distalen Zellgruppe aus der inneren Anlage; Fa zentral gelegene Faserschicht der Medulla; Fb Faserschicht zwischen den Bündeln des äußeren Chiasmas und der Zellkörperschicht der Medulla.



zweischichtig. Die Trennung kommt durch die Faserbündel zustande, die aus der Lamina in die entstehende Medulla einwachsen und die zwischen den beiden Schichten verlaufen (vgl. Abb. 25).

Die Faserschicht innerhalb der Bündel aus der Lamina stellt den Anfang des eigentlichen Medullaneuropils dar. Sie wächst durch das Zusammenwirken der einwachsenden Fasern aus dem Medullakortex und aus der Lamina. Entsprechend der zeitlich geordneten Ankunft der Fasern sind die ältesten Bereiche der Lamina mit dem medialen Rand des Medullaneuropils verbunden. Die jeweils neu dazukommenden Bündel aus der Lamina schließen sich in lateraler Richtung an die vorhergehenden an. Auf diese Weise entsteht ähnlich wie bei der Differenzierung der Lamina eine Abbildung des Musters in der Lamina bzw. der Retina auf die entstehende Medulla.

Die äußere Faserschicht zwischen den Bündeln aus der Lamina und dem Medullakortex erstreckt sich weiter nach lateral als die innere Schicht, nämlich unmittelbar bis zur äußeren optischen Anlage im Bereich der Lamina. An dieser Stelle besteht ein direkter anatomischer Kontakt zwischen dieser Faserzone und dem vorderen Rand des Laminaneuropils (vgl. Abb. 25, 24b). Die äußere Faserschicht wird von den Nervenfasern der Zellen des Medullakortex gebildet. Daß es sich dabei jedoch nicht um eine Vorstufe des endgültigen Medullaneuropils handeln kann, geht schon aus seiner Lage bezüglich der Faserbündel aus der Lamina hervor. Diese Bündel sind die Bündel des äußeren Chiasmas, das mit der Drehung der Medulla in der späteren Entwicklung deutlich hervortritt. Würde die äußere Faserschicht in ihrer larvalen Lage erhalten bleiben, wäre die Bildung des äußeren Chiasmas in seiner endgültigen Form nicht möglich. Im histologischen Bild ist die äußere Faserschicht zum Zeitpunkt der Drehung der Medulla nicht mehr sichtbar (vgl. Abb. 7b). Ein Übergangsstadium ist in Abb. 7a dargestellt. Im medialen Bereich der Medulla liegen die Faserbündel aus der Lamina an der Ober-

fläche des Medullaneuropils und grenzen nach außen direkt an den Kortex der Medulla. Die Zwischenschicht ist nicht mehr sichtbar. Am lateralen Rand der Medulla jedoch ist ein Rest der äußeren Faserschicht erhalten,

Eine Zellgruppe, die am Aufbau des Medullaneuropils beteiligt ist, jedoch außerhalb des Medullakortex liegt, ist die distale Zellgruppe des zentralen Zellpfropfs, die aus der Proliferationszone der inneren optischen Anlage hervorgeht. Die Nervenfasern der Zellen aus dieser Gruppe ziehen in großen Bündeln an der Innenfläche des Medullaneuropils von lateral nach medial entlang (vgl. Abb. 25b, 26). Dabei enthalten die Bündel umso weniger Fasern, je weiter medial sie geschnitten werden. Die Anordnung der Faserbündel zwischen den Bündeln, die aus der Medulla kommend zum Lobula-Komplex ziehen, läßt darauf schließen, daß je einer Horizontalreihe (auf das Komplexauge bezogen) von Medullasäulen ein Faserbündel aus der distalen Zellgruppe entspricht.

3.3.4. Die Differenzierung von Lobula und Lobula plate

Die Differenzierung des Lobula-Komplexes wurde nicht eingehend untersucht und wird hier nur in groben Umrissen dargestellt.

Die ersten Neuropilstrukturen des Lobula-Komplexes werden um die Mitte des dritten Larvenstadiums in dem Bereich zwischen den Schenkeln der U-förmigen inneren optischen Anlage sichtbar. Im Lauf des dritten Larvenstadiums entwickelt sich daraus eine keilförmige Faserzone, die nach lateral hin schmaler wird und in spitzem Winkel zur Innenfläche des Medullaneuropils steht. Die Wachstumsrichtung ist im wesentlichen parallel zu der der Medulla, also von medial nach lateral.

In der Pupalentwicklung wird im lichtmikroskopischen Bild die Trennung von Lobula und Lobula plate deutlich erkennbar (vgl. Abb. 7). In die Lobula plate ziehen die Nerven-

fasern aus der medialen Zellgruppe des zentralen Zellpfropfs. Die Zellen dieser Gruppe sind jedoch auch am Aufbau des Neuropils der Lobula beteiligt (Strausfeld, 1976). Weitere Fasern treten unmittelbar in das Neuropil der Lobula aus dorsoventraler Richtung ein.

3.4. Ergebnisse aus Experimenten mit der Mutante sine oculis

Tiere, die homozygot das Allel sine oculis (so) tragen, besitzen entweder keine oder nur sehr kleine Komplexaugen. Im dritten Larvenstadium ist der Genotyp mit einer Degeneration von Zellen in der Augenimaginalscheibe verbunden (Campos-Ortega u. Hofbauer, 1977; Ransom, 1979). Bei den meisten der untersuchten Larven konnten im späten dritten Larvenstadium im optischen Stiel außer den Fasern des larvalen Nervs keine Axone nachgewiesen werden. Die Annahme liegt deshalb nahe, daß die Rezeptorzellen der Retina degenerieren, bevor sie mit der Lamina Kontakt aufgenommen haben.

In den folgenden beiden Abschnitten werden die Entwicklung der optischen Ganglien in homozygoten so/so-Tieren beschrieben und die Veränderungen der imaginalen Ganglien dargestellt, die entstehen, wenn ein Teil des Komplexauges nicht differenziert wird. In beiden Fällen handelt es sich um rein qualitative Beobachtungen, eine quantitative Analyse wurde nicht durchgeführt.

3.4.1. Die Entwicklung der optischen Ganglien bei homozygoten sine oculis-Tieren

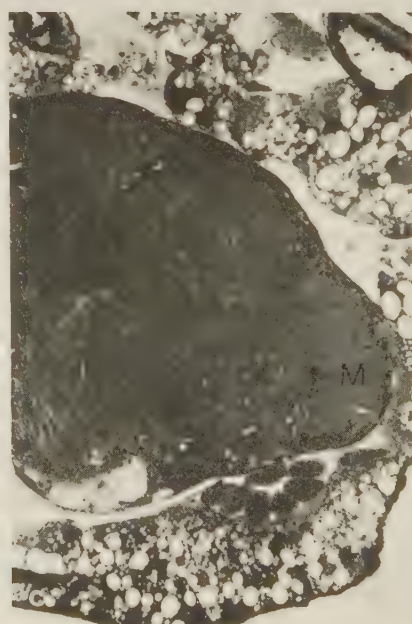
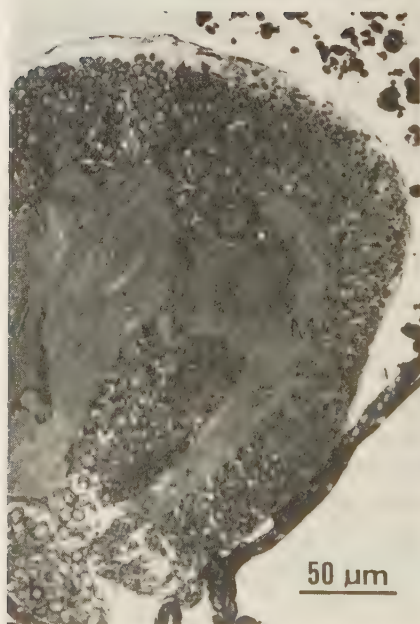
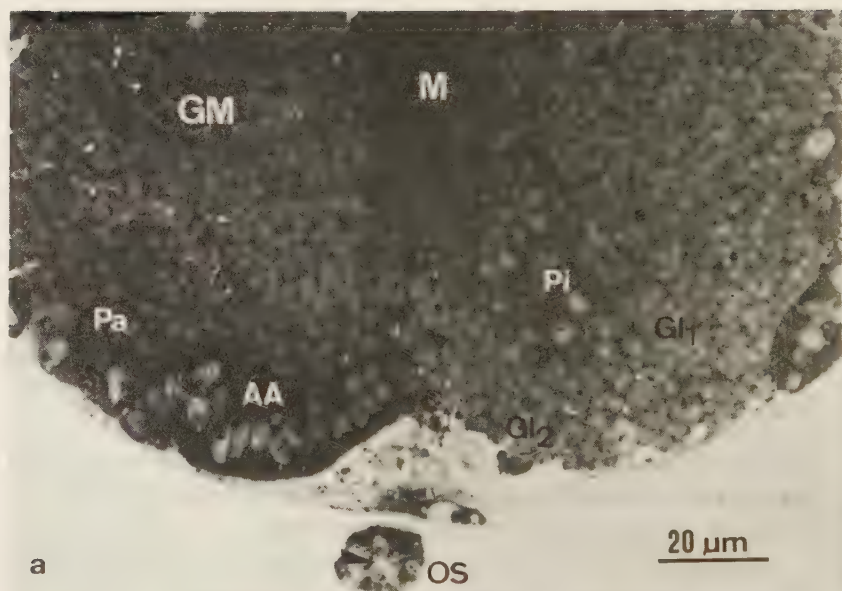
Die optischen Ganglien von homozygoten so/so-Larven des späten dritten Larvenstadiums unterscheiden sich von denen gleichaltriger Wildtyp-Larven in den meisten Fällen vor allem dadurch, daß keine Lamina vorhanden ist. Auch die

Furche im lateralen Bereich der äußeren optischen Anlage, die beim Wildtyp den Medulla-Teil von dem der Lamina zuzuordnenden Teil trennt, fehlt bei den so/so meist völlig (vgl. Abb. 27a). Der Lamina-Anteil der äußeren Anlage ist nicht erkennbar. Der laterale Rand der äußeren Anlage grenzt durch das Fehlen der Lamina direkt an den larvalen Nerv des optischen Stiels. Der gesamte Raum in der lateralen Öffnung der äußeren optischen Anlage wird im Übrigen vom zentralen Zellpfropf aus der inneren optischen Anlage ausgefüllt.

In den wenigen Fällen, in denen der optische Stiel Rezeptorzellaxone enthält, ist eine Lamina ausgebildet, die zwar deutlich kleiner als beim Wildtyp ist, im histologischen Aufbau aber keine Besonderheiten aufweist. Auch der laterale Lamina-Teil der äußeren Anlage mit der lateralen Proliferationszone ist in solchen Fällen erkennbar.

Im Gegensatz zur Lamina sind alle übrigen Ganglien in der Mutante vorhanden. Die mediale Proliferationszone der äußeren optischen Anlage und die Proliferationszone der inneren optischen Anlage innerhalb des zentralen Zellpfropfes zeigen weder im histologischen Aufbau noch in der Verteilung der markierten Zellen nach einer in vitro-Inkubation mit ^3H -Thymin irgendwelche Besonderheiten im Vergleich zum Wildtyp. Auch die Zellkörperschichten von Medulla und Lobula-Komplex unterscheiden sich nicht in einer offenkundigen Weise von denen eines Wildtyps des späten dritten Larvenstadiums, weder was die Anordnung noch was die Ausmaße anbelangt. Unterschiede sind jedoch beim Vergleich verpuppungsreifer Larven hinsichtlich der Neuropilstrukturen von Medulla und Lobula-Komplex erkennbar. Die Faserzonen wirken bei der Mutante hypertrophiert, sie zeigen keinerlei Binnenstruktur, die Trennung des Medulla-Faserbereiches in zwei Schichten ist nur schwach angedeutet (vgl. Abb. 27).

Zusätzlicher Zelltod im Vergleich zu den optischen Ganglien des dritten Larvenstadiums beim Wildtyp ist bei der Mutante



in den Zellkörperbereichen nicht zu beobachten. Am lateralen Rand der äußeren optischen Anlage jedoch treten in der Mutante degenerierende Zellen auf (vgl. Abb. 27a). Die Anzahl dieser Zellen in den einzelnen Präparaten ist recht gering; aber da über den Zeitraum, innerhalb dessen die degenerierenden Zellen erkennbar sind, nichts bekannt ist, lassen sich aus dieser Tatsache nicht ohne weiteres quantitative Schlüsse über das Ausmaß des Zelltodes in dieser Zone ziehen.

Während der pupalen Entwicklung geht die Öffnung des Ringes,

Abb. 27: Die optischen Ganglien in verschiedenen Entwicklungsstadien von so/so-Tieren.

Abb. 27a: Der Ausschnitt zeigt den lateralen Teil der optischen Ganglien einer mutanten Larve im späten dritten Larvenstadium nach einer in vitro-Inkubation mit ^3H -Thymidin. Die Lamina fehlt völlig, der laterale Rand der äußeren optischen Anlage zeigt nicht die im Wildtyp typische Ausbuchtung nach lateral, aus der die Lamina gebildet wird. Unmittelbar am lateralen Rand der Anlage sind einige degenerierende Zellen zu erkennen. Die Faserzone der Medulla wirkt umfangreich und unstrukturiert; am oberen Bildrand sind Fasern zu erkennen, die aus der Medulla zum Neuropil des Lobula-Komplexes führen. Die Pfeile weisen auf den larvalen Nerv des optischen Stiels hin. Ein vergleichbares, geringfügig jüngeres Entwicklungsstadium des Wildtyps ist in Abb. 9 dargestellt.

Abb. 27b: Die optischen Ganglien einer mutanten Puppe, 24 Std. nach der Pupariumbildung. Die pupale Differenzierung der Neuropilzonen hat nicht stattgefunden, die Zellkörperbereiche erscheinen im Vergleich zum Wildtyp reduziert und enthalten viele degenerierende Zellen. Zum Vergleich mit einem gleichaltrigen Wildtyp kann Abb. 6a dienen.

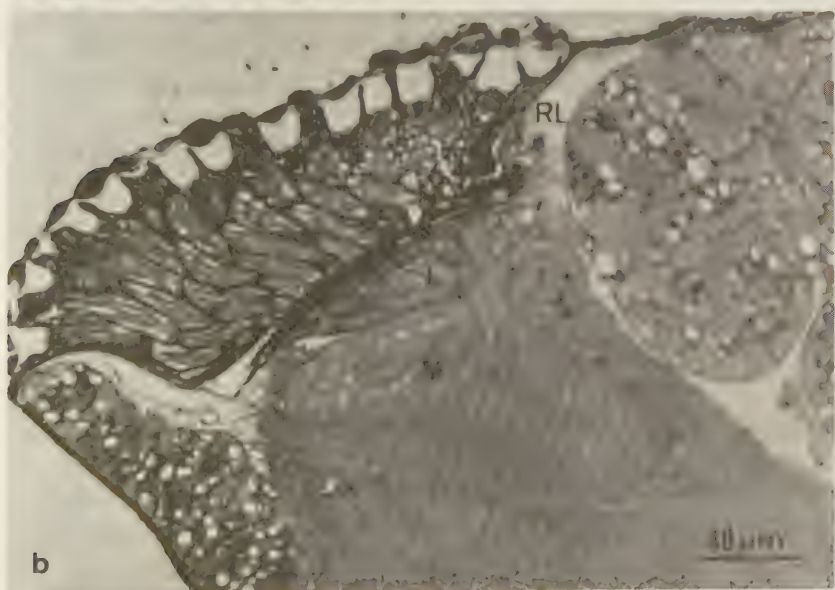
Abb. 27c: Die optischen Ganglien einer mutanten Imago. Die Neuropilzonen der Ganglien sind nur aufgrund ihrer Lage zuzuordnen, die Zellkörper sind auf einen schmalen, rindenartigen Bereich beschränkt. Viele Zellen erinnern in ihrer starken Anfärbbarkeit an degenerierende Zellen.

AA äußere optische Anlage; GI_1 mediale Zellgruppe aus der inneren optischen Anlage; GI_2 distale Zellgruppe aus der inneren Anlage; GM Ganglienzellen der Medulla; LK Faserbereich des Lobula-Komplexes; M Faserbereich der Medulla; OS optischer Stiel; Pa mediale Proliferationszone der äußeren optischen Anlage; Pi Proliferationszone der inneren optischen Anlage.

den die Zellkörperschicht der Medulla um den zentralen Zellpfropf herum bildet, in der normalen Weise vonstatten. Die Drehung der Medulla nach außen erfolgt jedoch nur zum Teil. Die Neuropilstrukturen von Medulla und Lobula-Komplex zeigen auch in der Puppe noch keine Binnenstruktur. Im Vergleich zum gleich alten Stadium des Wildtyps erscheinen sie nun auch wesentlich kleiner. Morphologisch gesehen bleiben die Faserzonen der Ganglien gleichsam auf dem Entwicklungsstadium zur Zeit der Pupariumbildung stehen. Die Differenzierung der Neuropilzonen mit der Herausbildung von Säulen, Schichtungen u.s.w. und der Vergrößerung der Faseranteile findet in der Mutante nicht statt. In den Zellkörperbereichen der Ganglien finden sich bei der mutanten Puppe mehr degenerierende Zellen als beim Wildtyp. Die Zellen liegen verstreut in den Zellkörperschichten, Degenerationsbanden oder -zonen sind nicht zu erkennen.

In der Imago schließlich sind die optischen Ganglien der Mutante in ihrer Größe drastisch reduziert und in ihrer Morphologie stark verändert. Die Neuropilmassen sind, kaum strukturiert, so stark verformt, daß sie manchmal nur mit Schwierigkeiten den einzelnen Ganglien zugeordnet werden können (vgl. Abb. 27c). Die Zellkörperbereiche sind klein, die Ganglienzellen sind dicht gepackt und stark angefärbt, sodaß sie den Eindruck degenerierender Zellen erwecken.

Abb. 28: Läsionen in der Retina des Komplexauges und ihre Auswirkungen auf die Entwicklung der optischen Ganglien.
Abb. 28a: Läsion in der Mitte der Retina. Lamina und Medulla lassen im lichtmikroskopischen Bild keine Störungen oder Lücken erkennen.
Abb. 28b: Große Läsion am Vorderrand der Retina. Die Lamina zeigt eine entsprechende Aussparung am vorderen Rand. In der Medulla ist keine besondere Veränderung zu erkennen.
L Lamina; M Medulla; RL Läsion in der Retina.



3.4.2. Die Wirkung von undifferenzierten Bereichen des Komplexauges auf die Entwicklung der optischen Ganglien

Röntgenbestrahlung heterozygoter so/+-Larven im ersten Larvenstadium führt zur Entwicklung von Imagines, deren Komplexaugen mehr oder weniger große Bereiche aufweisen, in denen keine Differenzierung der Retina stattgefunden hat (Hofbauer u. Campos-Ortega, 1976). Je nach der Lage dieser Bereiche lassen sich drei verschiedene Erscheinungsformen von Retinaläsionen beobachten. Die häufigste Form ist eine Läsion am vorderen Augenrand. Der Rand der Retina zeigt in einem solchen Fall eine Einbuchtung unterschiedlicher Größe. Die Lücke, die dadurch in der Retina entsteht, ist mit Kutikula-Gewebe ausgefüllt, das in manchen Fällen auch zusätzliche Borsten ausbildet. Eine zweite Form zeigt Läsionen innerhalb des Auges, die je nach ihrer Größe von kaum sichtbaren Musterstörungen bis zu deutlich sichtbaren Lücken in der Retina reichen. Diese Lücken sind in den meisten Fällen mit glatter Kutikula bedeckt, die keine Linsen trägt und die durch die darunter liegenden Pigmentzellen dunkel gefärbt erscheint. In einigen Fällen ragen aus solchen Lücken Kutikula-Auswüchse aus der Retina hervor, die dann meist hell gefärbt sind. Eine dritte Form schließlich ist als Übergang zwischen den beiden bereits genannten Formen zu verstehen. In diesen Fällen zeigen die Augen eine Lücke innerhalb der Retina, von der sich eine Furche oder Musterstörung bis zum vorderen Rand des Auges erstreckt. Der Bereich vor den Läsionen ist jedoch vollständig mit Ommatidien bedeckt. Lücken am hinteren Augenrand wurden nicht beobachtet.

Die Auswirkungen der Läsionen auf die Differenzierung der optischen Ganglien, so wie sie in der Anatomie der Imago sichtbar werden, sind bei den großen Läsionen am vorderen Augenrand am einfachsten zu erkennen. In diesen Fällen ist in der Lamina am vorderen Rand eine ähnliche Lücke zu er-

kennen wie in der Retina. Es hat jedoch oft den Anschein, als wenn die Ausbuchtung in der Lamina kleiner und flacher ausgebildet wäre als in der Retina. In der Medulla waren in den Schnittserien keine auffallenden Veränderungen sichtbar.

Bei Läsionen innerhalb der Retina sind die Auswirkungen auf die optischen Ganglien schwieriger zu charakterisieren. In keinem Fall konnte eine der Retinaläsion entsprechende Lücke in der Lamina gefunden werden. Bei sehr kleinen Störungen der Retina erscheint die Lamina im histologischen Bild völlig normal (vgl. Abb. 28a). Bei größeren Lücken innerhalb der Retina ist in der Lamina von der Stelle der Läsion an bis zum vorderen Rand eine Störung in der regelmäßigen Anordnung der Cartridges zu beobachten. In einigen Fällen schien dabei der Vorderrand der Lamina eingebuchtet zu sein. Die Medulla läßt auch hier keine sichtbaren Veränderungen erkennen.

Alle Formen von Retinaläsionen können zu Unregelmäßigkeiten in der Projektion der Lamina auf die Medulla führen. Im äußeren Chiasma enthalten nach Störungen im Auge einige Bündel von Horizontalreihen deutlich mehr oder weniger Fasern als sie dies bei normaler Entwicklung tun.

Insgesamt muß nach den Ergebnissen aus diesen Experimenten festgestellt werden, daß die Wirkung von Retinaläsionen auf die Entwicklung der optischen Ganglien auf einer rein qualitativen Basis letztlich nicht befriedigend beschrieben werden kann. Die qualitative Betrachtung muß durch eine quantitative Analyse ergänzt werden, die die Zahl der Ommatidien, der Cartridges und der Medulla-Säulen miteinander in Beziehung setzt.

4. DISKUSSION

Der erste Abschnitt dieses Kapitels beschäftigt sich mit der Zuverlässigkeit der verwendeten Auswertungsmethoden, von der die Aussagekraft der dargestellten Ergebnisse wesentlich abhängt. Die beiden anschließenden Abschnitte befassen sich mit zwei Aspekten des Entwicklungsablaufs, mit der anatomischen Anordnung der einzelnen Teile des visuellen Systems im larvalen und pupalen Gehirn und ihrer Identifizierung im Hinblick auf ihre Funktion im adulten System einerseits und mit dem Proliferationsmuster, das zur Bildung der imaginalen Zellen führt, andererseits. Was das erstgenannte Problem anbelangt, ergeben die in der Literatur veröffentlichten Ergebnisse ein recht einheitliches Bild, das nur in Details ergänzt werden kann. In der Frage des Proliferationsmusters herrschen weniger klare Vorstellungen, allerdings ermöglichen hier auch die Ergebnisse dieser Arbeit keine endgültige Klärung. Die beiden abschließenden Abschnitte sind vor dem Hintergrund der Frage nach der steuernden Ursache zu sehen, die zur Entstehung der hochgeordneten Struktur der optischen Ganglien führt. Dabei wird einmal besonders auf die zeitliche Abfolge in der Entwicklung abgehoben, die in diesem Zusammenhang eine Rolle spielen könnte, ein weiterer Abschnitt beschäftigt sich speziell mit dem Einfluß der Retina auf die Entwicklung der optischen Ganglien.

4.1. Methodenkritik

Die Zahl der in dieser Arbeit verwendeten Methoden ist recht gering. Es mag deshalb genügen, wenn hier zwei Methoden, auf denen ein Großteil der Ergebnisse beruht und die andererseits mögliche Fehlerquellen enthalten, näher behandelt werden: die verwendeten autoradiographischen Methoden und die Zellzählungen als Grundlage der quantitativen Aussagen.

4.1.1. ^3H -Thymidin-Autoradiographie

Der größte Teil der autoradiographischen Daten stammt aus Versuchen mit in vitro-Inkubationen und aus Injektionsexperimenten.

Die Inkubation in vitro erlaubt das Angebot einer hohen Konzentration von ^3H -Thymidin innerhalb einer kurzen Zeit und ermöglicht so eine einerseits deutliche und starke Markierung, und erlaubt andererseits durch die kurze Zeitspanne eine hohe Auflösung des anatomischen Musters in der Verteilung der markierten Zellen. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß die in vitro-Methode eine artifizielle Situation bedingt und nicht ohne weiteres auf die Interpretation der Verhältnisse in vivo angewendet werden darf. Es ist bekannt, daß bei Insekten schon verhältnismäßig geringfügige Störungen der Tiere Veränderungen im Zellteilungsmuster zur Folge haben können (Löbbecke, 1969), umso mehr sollte das für präparierte Organe gelten. In vitro-Inkubationen wurden deshalb grundsätzlich nur für kurze Zeiten durchgeführt, in der Regel für 30 Min. Auf diese Weise sollte das Ergebnis nur die Lage der Zellen wiedergeben, die sich bereits in der Phase des Thymidineinbaus befanden. Eine eventuelle Störung des Teilungsablaufes, z.B. eine Verzögerung von Zellteilungen oder verlängerte Zellstadien, sollten sich unter diesen Umständen nicht auf das Ergebnis auswirken.

Auch eine weitere mögliche Störungsquelle, ein direkter Einfluß der Thymidinkonzentration auf die Teilungsaktivität sollte durch die kurze Inkubationszeit vermieden werden können. Hohe Konzentrationen von Thymidin führen zu einer Unterbrechung des normalen Zellzyklus und haben in Kulturen zur Folge, daß sich Zellen in der G1-Phase ansammeln und nicht in die S-Phase eintreten (Bootsma et al., 1964). Die für diesen Nachweis verwendeten Konzentrationen liegen bei 2 mMol/l Thymidin, also deutlich höher als die in dieser Arbeit verwendeten (0.05 mMol/l). Trotzdem kann ein stören-

der Einfluß der Thymidinkonzentration auf die Teilungsaktivität bei längerer Inkubationszeit nicht ausgeschlossen werden. In Experimenten mit längerer Verfügungsdauer des ^3H -Thymidins wurde deshalb die Substanz durchwegs durch Füttern angeboten. Durch kurze Fütterungszeiten ergab sich dabei gleichzeitig eine Kontrolle der in vitro-Experimente, die keine Hinweise auf Artefakte erbrachte.

Die Injektionsexperimente entsprechen natürlichen Pulsexperimenten, da das Thymidin nach der Injektion im Körper der Larve schnell wieder abgebaut wird. Wildermuth (1968) fand bei Injektionen von ^3H -Thymidin in Drosophila-Larven nach 30 Min. nur noch 50% der Aktivität wieder, nach 8 Std. war die Aktivität auf 8% des ursprünglichen Wertes abgesunken.

Bei allen Ergebnissen aus den Markierungsexperimenten wurde bewußt auf eine quantitative Auswertung verzichtet. Bei den in vitro-Versuchen muß damit gerechnet werden, daß sich infolge der sehr kurzen Inkubationszeit die Größe der Gehirne mit den entsprechend langen Diffusionswegen auf die Stärke der Markierung und damit auf die Zahl der Zellen mit erkennbarer Markierung auswirken könnte. Unterschiedlich starke Markierung in der äußeren optischen Anlage im Vergleich zur inneren optischen Anlage in einigen der Präparate könnte auf diesen Effekt zurückzuführen sein. Zusätzlich ist nicht auszuschließen, daß etwa Verletzungen des Perineuriums bei der Präparation zu unterschiedlichen Voraussetzungen führen, die einen Vergleich verschiedener Präparate hinsichtlich der Stärke der Markierung bzw. der Anzahl der markierten Zellen problematisch erscheinen lassen.

Bei den Injektionsexperimenten ist eine quantitative Auswertung allein schon dadurch erschwert, daß bei der verwendeten Technik eine genaue Bestimmung des injizierten Volumens nicht möglich ist. Eine quantitative Auswertung wurde hier nur im Fall der Lamina vorgenommen, allerdings nur für die nähere anatomische Lokalisation der markierten

Zellen.

4.1.2. Zellzählungen

Alle quantitativen Angaben in dieser Arbeit basieren auf Zellzählungen. Die Technik der Plastikeinbettung mit Semi-dünnschnitten und anschließender Methylenblau/Toluidinblau-Färbung macht bei guter Fixierung das Erkennen der Zellkerne auch bei den kleinen Ganglienzellen zu keiner besonderen Schwierigkeit. Da die Schnitte nur 2 μm dick sind, erscheinen die meisten der Zellkerne in mehreren Schnitten. Dadurch ergibt sich in den histologischen Schnitten bzw. auf den photographischen Abzügen eine Zahl von Kernprofilen, die wesentlich höher ist als die Anzahl der tatsächlich vorhandenen Kerne. Dieser Fehler läßt sich korrigieren, wenn die Dicke der Schnitte und die Größe der Kerne bekannt ist. Die genaue Formel für diese Korrektur wurde aus der Arbeit von Marrable (1962) übernommen, sie ist in "Material und Methoden" angegeben.

Diese Korrektur liefert nur dann ein richtiges Ergebnis, wenn folgende Voraussetzungen erfüllt sind: Die Kerne sollten im Idealfall rund sein oder zumindest der Durchmesser senkrecht zur Schnittfläche sollte einheitlich sein, und die Zellen einer definierten Population sollten alle die gleiche Größe besitzen. Beide Bedingungen sind im Fall der optischen Ganglien nicht voll erfüllt. Die Zellkerne der Neuroblasten in den optischen Anlagen sind weder rund noch alle wirklich gleich groß. Die Größenunterschiede sind allerdings gering, so daß es möglich ist, einen repräsentativen Mittelwert zu bestimmen. Die Neuroblasten besitzen jedoch deutlich ellipsoide Kerne. Doch durch die in den meisten Fällen frontale Schnittrichtung wird im Großen und Ganzen etwa die Hälfte der Zellkerne senkrecht zur kürzeren und die andere Hälfte senkrecht zur längeren Achse geschnitten. Dadurch erscheint es gerechtfertigt, den Mittelwert aus der längeren und kürzeren Achse des Neuroblastenkerns

als den durchschnittlichen Durchmesser der Kerne einzusetzen.

Bei den Ganglienzellkernen bereitet die Form der Kerne keine Schwierigkeiten, sie ist annähernd rund und die Schnitterichtung spielt dadurch keine Rolle. Probleme ergeben sich hier bei der Zählung eher mit der beginnenden Differenzierung der Zellen. Einmal besteht die Gefahr, daß kleine Kernfragmente und quergeschnittene, ebenfalls schwach gefärbte Nervenfasern miteinander verwechselt werden könnten, zum anderen muß damit gerechnet werden, daß sich im Lauf der Differenzierung innerhalb der Zellpopulation eines Ganglions Zellen mit unterschiedlichen Kerngrößen herausbilden. Die Schwierigkeit der Unterscheidung von Kernpartikeln und Axonprofilen läßt sich am besten dadurch umgehen, daß nur die besonders guten histologischen Präparate für die Zählungen verwendet werden. Die Fehler, die sich aus unterschiedlichen Kerndurchmessern innerhalb einer Zellpopulation ergeben, lassen sich nicht ohne weiteres korrigieren. Eine Beseitigung dieser Fehlerquelle könnte allein eine statistische Auswertung der Querschnittsfläche aller Kernprofile erbringen. Diese Korrektur wurde nicht unternommen, zumal da für die früheren Entwicklungsstadien dieses Problem von geringerer Bedeutung ist. Es muß jedoch damit gerechnet werden, daß z.B. das Absinken der Zahlen für die Modullazellen nach der Proliferationsphase mit dadurch bedingt ist, daß die durchschnittliche Größe der Zellkerne überschätzt worden ist.

Eine Überprüfung des Korrekturverfahrens wäre möglich durch die Zählung einer Zellpopulation, von der die Anzahl der Zellen aus anderen Quellen bekannt wäre. Von der Lamina weiß man, daß zu jeder Cartridge fünf Monopolarzellen gehören. Zählt man dazu die Gliazellen, die die Zellkörper der Monopolarzellen voneinander trennen, erhält man für den Bereich, der bei den Zählungen im larvalen Gehirn erfaßt wurde, nämlich für den Bereich distal der Neuropilzone, pro Cartridge etwa sechs Zellen. Die 6 500 Zellen, die für die

Lamina gezählt wurden, würden nach dieser Rechnung etwas über 1000 Cartridges entsprechen, ein Wert der wesentlich über dem Durchschnittswert von 700-750 Ommatidien eines Drosophila-Auges liegt. Bei dieser Überlegung wird vorausgesetzt, daß die Anzahl der Cartridges in der Lamina gleich der Anzahl der Ommatidien im Komplexauge ist. Diese Annahme liegt nahe, da durch das Verknüpfungsmuster zwischen Retina und Lamina jedem Ommatidium eine ganz bestimmte Cartridge zugeordnet werden kann. Durch das Verschaltungsmuster der neuronalen Superposition ist aber zu erwarten, daß am Rand der Lamina Retinaaxone über den Bereich, der durch die Zahl der Ommatidien vorgegeben wird, hinaus projizieren. Die Folge wären Cartridges mit einem unvollständigen Satz von Retinaaxonen. Solche Cartridges wurden in der Tat von Beschek (1971) bei Musca und von Hanson (1972) bei Drosophila gefunden. Danach scheinen Cartridges sogar dann noch gebildet zu werden, wenn sie nur ein Rezeptorzellaxon enthalten. Unter diesen Umständen könnte also einem Auge mit 750 Ommatidien eine Lamina mit ca. 900 Cartridges entsprechen, ein Wert, der bereits wesentlich näher an dem liegt, der sich aus dem Ergebnis der Zellzählung ergibt. Bis jetzt ist jedoch die tatsächliche Anzahl der Cartridges im Verhältnis zur Zahl der Ommatidien eines Komplexauges nicht ermittelt worden. Aus diesem Grunde wurde darauf verzichtet, das Korrekturverfahren bei den Zellzählungen nach den Werten der imaginären Lamina zu "eichen". Immerhin läßt sich aus den angestellten Überlegungen annehmen, daß die Zahlen der Zählungen die tatsächliche Zellzahl wohl eher überschätzen als daß sie zu niedrige Werte liefern.

Vergleichswerte aus bisher veröffentlichten Arbeiten sind für die quantitativen Angaben bei Drosophila nicht bekannt. Lediglich für Musca hat Strausfeld (1976) Zahlen ermittelt, die sich allerdings nur auf die Neurone beziehen. Seine Zahlen liegen, jeweils auf ein Ommatidium zurückgerechnet, durchwegs unter den hier genannten. Ein direkter Vergleich

ist wegen der unterschiedlichen Methoden und der unterschiedlichen Zusammenfassung zu Zellpopulationen nicht möglich. Aber auch hier wird deutlich, daß die in dieser Arbeit genannten Werte wohl keinesfalls zu niedrig, eher etwas zu hoch angesetzt sind.

4.2. Zur Anordnung und Identifizierung der optischen Anlagen und Ganglien

Die Entwicklung der optischen Ganglien läßt bei allen Insekten gemeinsame Grundzüge erkennen. Das gilt sowohl für die anatomische Struktur der optischen Anlagen als auch für die Zuordnung der Zellpopulationen, die aus ihnen hervorgehen, zu bestimmten Zellgruppen des adulten visuellen Systems.

4.2.1. Die optischen Anlagen

Die Anlagen der optischen Ganglien bei Dipteren wurden als Struktur zum erstenmal von Viallanes (1885) beschrieben. Bauer (1904) erkannte, daß es sich bei diesen Strukturen um Aggregate von Neuroblasten handelt, aus denen durch Teilungsvorgänge die Zellen der einzelnen Ganglien gebildet werden. Er bezeichnete sie dementsprechend als "äußeren" und "inneren Bildungsherd". Die optischen Anlagen im Gehirn von Drosophila melanogaster wurden erstmals von Hertweck (1931) beschrieben.

Die anatomische Form der optischen Anlagen, wie sie in dieser Arbeit gefunden wurde, entspricht grundsätzlich der, wie sie für eine ganze Reihe anderer Insekten beschrieben worden ist. Schon Bauer (1904) hat darauf hingewiesen, daß bei den von ihm untersuchten Beispielen aus den Ordnungen der Dipteren, Coleopteren, Lepidopteren und Hymenopteren eine grundsätzliche Übereinstimmung in der Anordnung und Funktion der optischen Anlagen bestand. In allen Fällen handelt es sich bei den Anlagen um epitheliale Gebilde,

aus denen an bestimmten Proliferationszonen über einen gewissen Zeitraum hin Zellen abgegeben werden, die ihrerseits die optischen Ganglien bilden. Im larvalen Gehirn sind die im Prinzip zweidimensional-flächigen Anlagen gekrümmt oder sogar spiralförmig gerollt angeordnet, wie es besonders deutlich in der Beschreibung der optischen Anlagen bei Danaus von Nordlander und Edwards (1969b). Bei Drosophila gilt dies besonders für die äußere optische Anlage, die wie ein Ring im lateralen Bereich der Hemisphäre angeordnet ist. Dabei bleibt jedoch im dorsocaudalen Bereich immer eine deutliche Unterbrechung erkennbar, ein wirklich geschlossener Ring, wie er bei Hertweck (1931) beschrieben ist, besteht zu keiner Zeit der Entwicklung. Das wäre auch von der Funktion der Anlage her nicht zu erwarten, denn die Ganglien, die aus den Proliferationszonen hervorgehen, entsprechen in ihrer prinzipiellen Anordnung ebenfalls zweidimensional-flächigen Gebilden. Auch die anatomische Kontinuität zwischen äußerer und innerer optischer Anlage, wie sie aus der Beschreibung von Hertweck hervorgeht, konnte nicht bestätigt werden, ebensowenig der Durchtritt der Fasern aus den lateral gelegenen Ganglien durch eine allseits umschlossene Öffnung der inneren optischen Anlage.

4.2.2. Die Zuordnung von optischen Anlagen, Ganglienzellen und Ganglien

Bauer (1904) beobachtete bei Culex, daß die Ganglienzellen von Lamina und Medulla aus der äußeren, die des Lobula-Komplexes aus der inneren optischen Anlage hervorgehen. Zusätzlich dazu beschrieb er eine weitere Teilungsaktivität der inneren Anlage im medialen Bereich, aus der Zellen der "Ganglien 4-6" hervorgehen, wobei es nicht ganz klar ist, um welche Ganglien es sich dabei handelt. Abweichend davon beschrieb Bretschneider (1914) bei Tenebrio eine Beteiligung der äußeren optischen Anlage bei der Bildung des Lobula-Komplexes sowie eine Beteiligung der inneren opti-

schen Anlage an der Bildung der Medullazellen. Später wurde die Auffassung Bauers an vielen Beispielen bestätigt und sie steht auch in völliger Übereinstimmung mit den Ergebnissen dieser Arbeit. Es sind lediglich kleinere Zellgruppen, deren Ursprung oder Zuordnung nicht völlig geklärt sind.

Eine solche Gruppe von Zellen sind die Ganglienzellen am vorderen Rand des Medullakortex, die als erste zu Beginn des dritten Larvenstadiums gebildet werden. Von den übrigen Zellen des Medullakortex unterscheiden sie sich durch ihre etwas größeren Zellkörper. Diese Zellgruppe wurde bei verschiedenen Insekten beschrieben von Panov (1960), Nordlander u. Edwards (1969b), Meinertzhagen (1973) und bei Drosophila von White u. Kankel (1978). Die Herkunft dieser Zellen wird von den meisten Autoren der äußeren optischen Anlage zugeschrieben. Panov jedoch vermutet, daß sie bei der Biene aus großen Neuroblasten außerhalb der äußeren optischen Anlage hervorgehen. Auch bei Drosophila befinden sich einige große Neuroblasten, die nicht zur optischen Anlage gehören, nahe dem medialen Rand der äußeren optischen Anlage. Für die Entstehung der fraglichen Zellgruppe aus der optischen Anlage spricht jedoch die zeitliche Übereinstimmung der Markierung dieser Zellen in der Imago nach Injektionen von ^3H -Thymidin unmittelbar zu Beginn des dritten Larvenstadiums und das Auftreten der ersten kleineren Zellen in unmittelbarer Nachbarschaft des medialen Randes der äußeren optischen Anlage mit Beginn des dritten Stadiums. Überdies können die Zellen des vorderen Medullakortex nur innerhalb eines kurzen Zeitraums in der ersten Phase des dritten Larvenstadiums durch ^3H -Thymidinpulse markiert werden. Bei einer Bildung durch wenige Neuroblasten müßte man wegen der Aufeinanderfolge mehrerer Teilungen einen längeren Zeitraum erwarten.

Entsprechend ihrer Entstehungszeit beginnen die Zellen am Vorderrand der Medulla auch als erste mit der Bildung einer

Faserzone. Diese besitzt zu einem Zeitpunkt, zu dem die Differenzierung des Lobula-Komplexes noch nicht begonnen hat, eine Faserverbindung zum zentralen Neuropil der Hemisphäre. Es liegt nahe, in dieser Verbindung den Faserstrang zu sehen, der in der Imago das Medullaneuropil unmittelbar mit dem Protocerebrum bzw. mit der contralateralen Medulla verbindet, nämlich das Cucatti'sche Bündel bzw. den Tractus opticus posterior. In der Gruppe der zuerst gebildeten Zellen des vorderen Medullakortex wären dann die Zellen zu suchen, die die Fasern des Cucatti'schen Bündels hervorbringen. Diese Interpretation steht in voller Übereinstimmung mit der Beschreibung dieser Zellen als den Tangentialzellen der Medulla (Nordlander u. Edwards, 1969b; Meinertzhagen, 1973; White u. Kankel, 1978).

Eine weitere Zellgruppe, deren Proliferationsmodus nicht in den Einzelheiten geklärt ist, ist die distale Zellgruppe aus der inneren Anlage, die in den Abbildungen als GI_2 bezeichnet wurde. Sie bildet zusammen mit der medialen Zellgruppe und den Neuroblasten in der Proliferationszone der inneren optischen Anlage den zentralen Zellpfropf der Hemisphäre, wobei die beiden Gruppen von Ganglienzellen durch die Neuroblasten voneinander getrennt werden. Es wäre deshalb von der anatomischen Anordnung her plausibel anzunehmen, daß aus der Proliferationszone Ganglienzellen nach zwei Richtungen, zur medialen und distalen Gruppe hin, abgegeben würden. Dies würde auch der Darstellung von Meinertzhagen (1973) entsprechen. Mit dieser Annahme sind jedoch einige Beobachtungen dieser Arbeit nicht vereinbar: Die Markierungsbande im Gehirn der Imago bewegt sich im Fall der distalen Zellgruppe bei späterer 3H -Thymidininjektion in laterale Richtung, also in dieselbe Richtung wie im Fall des Kortex der Lobula plate, der mit der medialen Zellgruppe identisch ist. In besonders günstigen Präparaten ist in der Markierungsbande der distalen Gruppe eine asymmetrische Anordnung der markierten Zellen zu sehen;

die stärker markierten Zellen, die den älteren Zellen entsprechen, liegen dabei nach medial hin in Richtung zur Lobula plate. Aus dem histologischen Bild des larvalen Gehirns geht hervor, daß die Axone der Faserbündel, die aus der distalen Gruppe zur Medulla ziehen, von Zellen ausgehen, die in unmittelbarer Nachbarschaft der Proliferationszone zwischen distaler und medialer Gruppe liegen (vgl. Abb. 25b). In Autoradiogrammen des larvalen Gehirns nach in vitro-Inkubation mit ^3H -Thymidin können zwischen den Faserbündeln zur Medulla und dem hinteren Rand der Lamina markierte Zellen beobachtet werden (vgl. Abb. 10a). Alle diese Beobachtungen sprechen dafür, daß die ältesten Zellen der distalen Zellgruppe an der Grenze zur medialen Gruppe bzw. in der Larve zum Proliferationszentrum hin liegen, daß die jeweils neu entstandenen Zellen aus der Proliferationszone der inneren Anlage heraus nach lateral geschoben werden und so zwischen den schon vorher gebildeten Zellen und dem Rand der Lamina eingeordnet werden.

Die Ganglienzellen aus der distalen Zellgruppe bilden kein eigenes Neuropil. Viallanes (1885) sieht in ihnen Ganglienzellen der Medulla, Meinertzhagen (1973) beschreibt sie als T- und Y-Zellen, die in den Lobula-Komplex projizieren, also um Zellen, deren Nervenfasern in der Medulla und der Lobula (T2, T3) oder der Lobula plate (T4) bzw. in der Medulla, der Lobula und der Lobula plate (Y) endigen (Strausfeld, 1976). Aus der histologischen Untersuchung des larvalen Gehirns läßt sich nur folgern, daß die Nervenfasern dieser Zellen zur Innenfläche des sich differenzierenden Neuropils der Medulla und dort an der Grenze des Neuropils von lateral nach medial ziehen. Auf die Situation in der Imago bezogen entspricht das einer Anordnung entlang der Horizontalreihen der Säulen der Medulla. Wo die Endigungen der Nervenfasern dieser Zellen liegen, läßt sich ohne spezielle Faserfärbungen nicht bestimmen.

In der Imago sind die Zellen der distalen Zellgruppe auf

einen schmalen, keilförmigen Bereich zwischen dem Kortex der Lobula plate und dem hinteren Rand der Medulla beschränkt. Genau in dieser Zone lokalisierten Cajal u. Sánchez bei Calliphora die Zellkörper von Ganglienzellen, deren Axone an der Innenseite des Medullaneuropils entlangziehen, in das Neuropil von medial her eintreten und Endigungen in der Medulla und in der Lamina besitzen (Cajal u. Sánchez, 1915). Dieselben Zellen beschrieben Braitenberg u. Strausfeld (1973) bei Musca als die Zentrifugazellen C2 und C3. Je eine dieser Zellen gehört zu jeder Medulla-Säule bzw. zu jeder Cartridge. Eine ganz ähnliche Lage des Zellkörpers wie für die Zellen C2 und C3 gibt Strausfeld (1976) für die Zelle T3, die in die Medulla und die Lobula plate projiziert.

Eine Bestimmung der Zellzahl für die distale Zellgruppe ist nicht ohne weiteres möglich, da in den meisten Entwicklungsstadien die Grenze zwischen medialer und distaler Gruppe nicht überall erkennbar ist. Abschätzungen, die sich auf Zählungen einiger günstiger Puppenstadien beziehen, ergeben eine Zahl von 3-4 Zellen der distalen Gruppe pro Ommatidium. Diese Zahl wäre in guter Übereinstimmung mit der Annahme, daß es sich bei den Zellen der distalen Gruppe um die C-Zellen und um eine oder einige der T- und Y-Zellen, z.B. um T3, handelt.

Besonders schwierig ist die Entstehung der Lobula zu verfolgen. In den meisten Arbeiten über die Entwicklung der optischen Ganglien wird die Lobula nicht berücksichtigt, was die Herkunft der ihr zugeordneten Ganglienzellen angeht. Viallanes (1885) beschreibt drei Gruppen von Zellen, die an der Bildung der Lobula beteiligt sind. Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen erkennen, daß eine Gruppe von Zellen, die im Bereich des caudalen Endes des ventralen Schenkels der inneren optischen Anlage gebildet werden, mit der Entstehung der Lobula in Zusammenhang stehen. Gerade wegen der Vielfalt von Zelltypen, die am Aufbau der Lobula beteiligt

sind (Strausfeld, 1976), muß es offen gelassen werden, ob diese Zellen allein die Lobula bilden. In Frontalschnitten des pupalen Gehirns wurde zumindest eine weitere Gruppe von Zellen gefunden, deren Axone in die Faserverbindung zwischen Lobula und Protocerebrum eintreten. Es spricht alles dafür, daß diese Zellen nicht aus den optischen Anlagen hervorgehen.

4.3. Das Teilungsmuster von Neuroblasten und Gangliennutterzellen

In der Entwicklung der optischen Ganglien sind zwei Arten von Teilungsaktivität zu unterscheiden, die Teilung von Neuroblasten in neue Neuroblasten, die zur Entstehung und Erhaltung der optischen Anlagen führt, und die Teilungen, die zur Entstehung der Ganglienzellen aus den Neuroblasten führen. Beide Arten von Teilung laufen während eines großen Zeitraums der Entwicklung nebeneinander ab.

4.3.1. Die Proliferation der Neuroblasten

Die Teilungen von Neuroblasten in den optischen Anlagen, aus denen wiederum ausschließlich Neuroblasten hervorgehen, sind während des gesamten Larvenstadiums bis hinein in die frühe Pupalentwicklung zu beobachten. Am besten läßt sich diese Teilungsaktivität in den beiden ersten Larvenstadien charakterisieren, da in dieser Zeit in den optischen Anlagen keine anderen Zellen als Neuroblasten entstehen. Aus der Zunahme der Zellen innerhalb dieses Entwicklungszeitraumes läßt sich eine durchschnittliche Dauer des Zellzyklus von 7-8 Std. erschließen. Aus den Daten läßt sich jedoch nicht entnehmen, ob die Zunahme der Zellzahl kontinuierlich erfolgt. Zumindest die Zeit des Schlüpfens aus dem Ei scheint einen Einschnitt in der Proliferation der Neuroblasten darzustellen, denn die Zellzahl steigt in den ersten Stunden der Larvalentwicklung kaum an, und die Neuroblasten der frischgeschlüpften Larve lassen nach einer

in vitro-Inkubation mit ^3H -Thymidin keinen Thymidineinbau erkennen. Ob die Häutungen zum zweiten und dritten Larvenstadium ähnliche Einschnitte in der Proliferation darstellen, geht aus den Ergebnissen nicht hervor; die zeitlichen Abstände der untersuchten Entwicklungsstadien sind dazu zu groß. Zumindest die Pupariumbildung jedoch scheint auf den Proliferationsablauf keinen Einfluß zu haben.

Im dritten Larvenstadium und nach der Pupariumbildung wird die Entstehung von Neuroblasten von der Bildung der Ganglienzellen überlagert. Dadurch ist es nicht möglich, direkt zu überprüfen, ob die Parameter, die für die Proliferation der Neuroblasten in den beiden ersten Larvenstadien gelten, auch in der weiteren Entwicklung beibehalten werden.

4.3.2. Die Entstehung der Ganglienzellen aus den Neuroblasten

Das Teilungsmuster, das zur Bildung der Ganglienzellen aus den Neuroblasten führt, ist in seinen Einzelheiten an Beispielen aus dem nichtoptischen Bereich des Gehirns beschrieben worden, da hier die Vorgänge durch die geringere Anzahl der Neuroblasten besser zu verfolgen sind. Bauer (1904) konnte für die Neuroblasten des Antennenlobus von Culex zeigen, daß aus ihnen durch inäquale Teilungen jeweils wieder ein Neuroblast und eine wesentlich kleinere Zelle, eine Ganglienmutterzelle, hervorgehen. Durch zumindest eine weitere, diesmal äquale Teilung, entstehen schließlich aus der Ganglienmutterzelle Ganglienzellen. Der Neuroblast bleibt so während der ganzen Proliferationszeit als solcher erhalten und degeneriert nach der letzten Teilung. Zumindest in einigen Fällen konnte Bauer diese Degeneration beobachten. Die inäqualen Teilungen der Neuroblasten waren auch schon vorher für die Embryonalentwicklung von Insekten beschrieben worden (Wheeler, 1893; Heymons, 1895).

Das von Bauer (1904) beschriebene Teilungsmuster wurde in späteren Untersuchungen an vielen verschiedenen Insekten

in seinen Grundzügen bestätigt. Abweichungen werden vor allem für die letzte Phase der Proliferation beschrieben. Schrader (1938) fand bei Ephestia, daß die Zellen, die aus den letzten inäqualen Teilungen eines Neuroblasten hervorgehen, sich ohne weitere Teilungen zu Ganglienzellen differenzieren, während der Neuroblast schließlich degeneriert. Malzacher schloß aus der Beobachtung, daß in der Embryonalentwicklung von Carausius und Periplaneta die Neuroblasten mit zunehmender Teilungszahl allmählich kleiner werden und daß er keine degenerierenden Neuroblasten finden konnte, daß die letzte Teilung in diesen Fällen zur Bildung von zwei Ganglienmutterzellen führt (Malzacher, 1968). Bei Drosophila hat El Shatoury (1956) im nichtoptischen Teil des Gehirns die Degeneration von Neuroblasten beschrieben.

Die Angaben über die Teilungen der Neuroblasten im Bereich der optischen Anlagen in der Literatur ergeben ein komplexeres Bild als im Fall der nichtoptischen Neuroblasten. Schrader beschrieb inäquale Teilungen von Neuroblasten am Rand der optischen Anlagen bei Ephestia (Schrader, 1938). Er wies ausdrücklich darauf hin, daß während der Entstehungsphase der Ganglienzellen degenerierende Neuroblasten auftreten und am Ende der Proliferationsphase alle restlichen Neuroblasten der optischen Anlagen degenerieren. Er steht damit im Gegensatz zu Umbach (1934), der, ebenfalls bei Ephestia, keine degenerierenden Neuroblasten im Bereich der optischen Anlagen finden konnte. Er beobachtete jedoch ebenfalls die inäqualen Teilungen der Neuroblasten. Auch bei Culex wurden inäquale Teilungen von Neuroblasten der optischen Anlagen beschrieben (Pflugfelder, 1937), ebenso wie später bei Danaus (Nordlander u. Edwards, 1969a,b) und bei Schistocerca (Anderson, 1978a). In den beiden letztgenannten Untersuchungen werden auch degenerierende Neuroblasten der optischen Anlagen erwähnt. Panov (1960), der eine vergleichende Untersuchung der Entwicklung der optischen Ganglien bei verschiedenen Insekten durchführte,

fand dabei unterschiedliche Teilungsmuster. Während er bei Apis, Pieris und Aeschna inäquale Teilungen der Neuroblasten beobachtete und zumindest bei der Biene auch degenerierende Neuroblasten identifizieren konnte, fand er, daß sich bei Tettigonia und Siphonurus die Neuroblasten äqual in je zwei Gangliennutterzellen teilen. Diese äqualen Teilungen der Neuroblasten waren schon vorher von Corneli (1924) bei Blattwespenlarven für die letzten Teilungen vermutet worden und von Bott (1928) für Gyrinus und von Grabenhorst (1930) für verschiedene Ephemeridenarten beschrieben worden. Zum gleichen Schluß kam Malzacher (1968) bei der Untersuchung von Carausius und Periplaneta.

Die Befunde dieser Arbeit liefern kein eindeutiges Bild über den Ablauf der Ganglienzellbildung aus den Neuroblasten der optischen Anlagen bei Drosophila. Eindeutige inäquale Teilungsstadien konnten nicht beobachtet werden. Dazu muß jedoch bemerkt werden, daß durch die Verwendung verhältnismäßig dünner Schnitte solche Teilungsfiguren nicht erkannt werden, wenn die Schnittrichtung nicht besonders günstig ist. Aus den quantitativen Ergebnissen geht eindeutig hervor, daß vom Ende des dritten Stadiums an bis gegen Ende der Proliferationsphase die Zahl der Neuroblasten stark abnimmt, ohne daß degenerierende Neuroblasten zu beobachten wären. Dies ist ein starkes Argument dafür, daß äquale Teilungen von Neuroblasten in Gangliennutterzellen bei der Proliferation eine Rolle spielen. Auch das histologische Erscheinungsbild der Proliferationszonen bietet keine eindeutigen Anhaltspunkte. Die Zone mit den Neuroblasten außerhalb des epithelialen Teils der Anlagen wurde von Bott (1928), Panov (1960) und White und Kankel (1978) in ganz ähnlicher Form beschrieben wie sie hier beobachtet wurde. Bott fand in ihr äquale, Panov inäquale Teilungen. Auf inäquale Teilungen bei Drosophila könnte die Tatsache hinweisen, daß die mediale Proliferationszone der äußeren optischen Anlage zu Beginn des dritten Larvenstadiums sehr

schmal ist und im Lauf der Proliferation breiter wird. Genau das wäre zu erwarten, wenn die Neuroblasten sich einmal oder einigemale inäqual teilen würden. Daß es sich nicht um eine kontinuierliche Folge von inäqualen Teilungen dieser Neuroblasten handeln kann, geht daraus hervor, daß die Proliferationszone sich völlig auflöst und sich dadurch der Rand der Anlage nach lateral verschiebt. Insgesamt bietet sich also eine Interpretation an, nach der ein großer Teil der Ganglienmutterzellen aus äqualen Teilungen von Neuroblasten hervorgeht, wobei jedoch damit gerechnet werden muß, daß sich alle oder ein Teil der Neuroblasten einmal oder einigemale inäqual teilen. Zur Degeneration von Zellen kommt es dabei nur am Ende der Proliferationszeit, wobei offen gelassen werden muß, ob es sich bei diesen Zellen um die letzten Neuroblasten der Anlagen oder um Ganglienmutterzellen bzw. Ganglienzellen handelt.

In den meisten Fällen ist es schwierig zu beurteilen, ob die Ganglienmutterzellen, die aus den Neuroblasten entstehen, sich noch einmal oder mehrmals teilen. Im letzteren Fall würde das bedeuten, daß Ganglienmutterzellen mehrerer Generationen unterschieden werden müßten. Für den optischen Bereich lassen Nordlander u. Edwards (1969b) bei Danaus und White und Kankel (1978) bei Drosophila die Frage nach der Anzahl der Teilungen der Ganglienmutterzellen offen. An sich sollte die Teilungsabfolge in der Anordnung der thymidineinbauenden Zellen bei Pulsexperimenten sowohl im Gehirn der Larve als auch im Gehirn der Imago sichtbar werden. Im larvalen Gehirn ist nur eine schmale Zone von markierten Zellen zu erkennen, die sich in unmittelbarer Nähe der Neuroblasten in der Proliferationszone befinden. Diese Anordnung ist nur verständlich, wenn die G1-Phase der Ganglienmutterzellen äußerst kurz ist. Bei mehreren Teilungen der Ganglienmutterzellen müßte man fordern, daß die S-Phasen zwischen den Teilungen sehr schnell aufeinander folgen. Eine größere Anzahl von Teilungen wäre mit dem Ergebnis der Autoradiographie sicher nicht zu vereinbaren. In der Imago sind

die markierten Zellen der Medulla, Lobula plate und der distalen Zellgruppe aus der inneren optischen Anlage jeweils in eine einzige Markierungsbande zusammengefaßt. Lediglich bei der Lamina lassen sich zwei deutlich unterscheidbare Maxima in der Verteilung der markierten Zellen nachweisen. Dieser Befund unterscheidet sich von dem Ergebnis, das Nordlander u. Edwards (1969b) bei Danaus beschreiben. Sie finden auch in der Medulla zwei Markierungsbanden. Die Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse bei Danaus und Drosophila bzw. zwischen Lamina und Medulla könnte in der unterschiedlichen Proliferationsgeschwindigkeit liegen. Da bei Drosophila sehr viele Medullazellen innerhalb eines verhältnismäßig kurzen Zeitraumes gebildet werden, könnten die an sich vorhandenen getrennten Markierungsbanden ineinander verfließen. In der Lamina, die die geringste Zuwachsrates von Zellen pro Zeiteinheit aller Ganglien aufweist und in der die Zellen trotzdem über einer verhältnismäßig großen Fläche verteilt sind, sind die beiden Markierungsbanden getrennt sichtbar.

Für die Frage nach der Anzahl der Teilungen der Gangliengliedermutterzellen gibt die Anzahl der Markierungsbanden keinen Aufschluß. Theoretisch müßte jede Teilung in einer Bande resultieren, gleichgültig, ob es sich um Teilungen von Neuroblasten oder von Gangliengliedermutterzellen handelt, so daß eine Zuordnung von Markierungsbanden und bestimmten Teilungsschritten nur dann möglich ist, wenn die Anzahl der Teilungsschritte vorher bekannt ist, daß diese aber nicht aus der Anzahl der Banden geschlossen werden können. Eher könnten Aufschlüsse über die Anzahl der Teilungsschritte aus dem Verhältnis markierter Neuroblasten der Proliferationszone zur Zahl der markierten Gangliengliedermutterzellen gewonnen werden. In dieses Verhältnis geht jedoch die Dauer der jeweiligen S-Phasen wesentlich mit ein, diese jedoch wiederum ist nicht bekannt. So bleibt am ehesten eine Abschätzung aufgrund der quantitativen Beschreibung der Zellproliferation. Aus dem Verlauf der Kurve der Neuroblasten-

anzahl läßt sich, vorausgesetzt die Dauer des Zellzyklus ist konstant und bekannt, die Anzahl der insgesamt aus Teilungen von Neuroblasten entstandenen Ganglienmutterzellen berechnen, wenn man annimmt, daß keine Neuroblasten degenerieren. Unter der Annahme einer Zellzyklusdauer von 7,5 Std. ergibt sich, daß aus der äußeren optischen Anlage in der gesamten Proliferationszeit etwa 9 000 bis 10 000 Ganglienmutterzellen (der ersten Generation) gebildet werden. Aus diesen Ganglienmutterzellen gehen letztlich etwa 47 000 Zellen von Medulla und Lamina hervor. Aus einer Ganglienmutterzelle müßten demnach durchschnittlich 4-5 Zellen entstehen. Für die innere optische Anlage liegt die Zahl der errechneten Ganglienmutterzellen bei ca. 5 000. Um die ca. 14 000 Zellen zu bilden, die aus der inneren Anlage hervorgehen, müßten einer Ganglienmutterzelle also durchschnittlich 2-3 Zellen entsprechen. Diese Überlegungen zeigen, daß zumindest bei der Medulla damit gerechnet werden muß, daß die Tochterzellen der Ganglienmutterzellen aus den Neuroblastenteilungen sich nicht zu Nervenzellen differenzieren, sondern sich ein weiteres Mal teilen. Diese Überlegung muß nicht für die Lamina gelten, da sich das Teilungsmuster der Lamina der geringen Zellzahl wegen kaum auf das Gesamtergebnis der äußeren optischen Anlage auswirkt. Eine getrennte Abschätzung für Lamina und Medulla ist nicht möglich, da die Unterscheidung eines Lamina- und Medullaanteils der äußeren optischen Anlage eine rein morphologische ist, die über die Proliferation der Neuroblasten nichts aussagt. Die Abschätzung für die innere optische Anlage legt die Annahme nur einer Teilung der Ganglienmutterzellen nahe. Man muß jedoch berücksichtigen, daß die histologische Zuordnung von Neuroblasten und Ganglienmutterzellen in der Proliferationszone der inneren Anlage schwieriger ist und daß verschiedene Populationen von Zellen in der Zählung zusammengefaßt sind. Die Möglichkeit von Fehleinschätzungen ist deshalb größer als bei der äußeren optischen Anlage.

4.3.3. Zusammenhang zwischen Teilungsmuster und Zelldifferenzierung

Hunt (1975) hat die Frage aufgeworfen, ob das Teilungsmuster, das zur Entstehung einer Gruppe von Zellen aus einzelnen Neuroblasten führt, mit der Tatsache in kausalem Zusammenhang steht, daß sich die Ganglienzellen zu verschiedenen Typen von Neuronen differenzieren werden. Es wäre von Interesse festzustellen, ob Zellen eines bestimmten Differenzierungstyps mit einem für sie charakteristischen Teilungs- bzw. Entstehungsmodus korreliert werden können. Als Methode bietet sich die Autoradiographie an, dazu ist es jedoch notwendig, die Zellen nach der Morphologie und Lage ihres Zellkörpers zu identifizieren. Im Bereich der optischen Ganglien ist das nur bei der Lamina bis zu einem gewissen Grad möglich.

In Autoradiogrammen der pupalen Lamina nach einem ^3H -Thymidinpuls während der Proliferationsphase ist zu erkennen, daß sich die Monopolarzellen und die Gliazellen in ihrer Markierung unterscheiden. Die charakteristische Abfolge der Neurone innerhalb des Kortex entsprechend ihrer Entstehungszeit gilt nicht für die Gliazellen, sie lassen kein geordnetes zeitliches Muster ihrer Entstehung erkennen. Ein unterscheidendes Markierungsmuster für die einzelnen Monopolarzellen konnte nicht gefunden werden. Die beiden Markierungsmaxima der Lamina unterscheiden sich nicht in Bezug auf bestimmte Zelltypen, alle Monopolarzellen können in beiden Maxima markiert erscheinen. Das vordere Maximum, das in seiner anatomischen Anordnung auch breiter ist und das im Durchschnitt weniger stark markierte Zellen enthält, dürfte deshalb wohl auf die vorletzte S-Phase der Monopolarzellen zurückzuführen sein und nicht auf die zeitlich frühere Entstehung bestimmter Zellen. Die Unterscheidung der verschiedenen Monopolarzellen bezieht sich dabei nur auf die unterschiedliche Entfernung der Zellkörper vom Neuropil der Lamina. Dieses Kriterium bezieht sich auf die

unterschiedliche Lage der Zellkörper von L1-5 in der Zellkörperschicht der Lamina in der Imago, ist jedoch für die Puppe nicht eigens gesichert.

Das unterschiedliche Markierungsmuster von Ganglienzellen und Gliazellen im Bereich der optischen Ganglien, wie es hier beschrieben wurde, entspricht voll dem, das Nordlander u. Edwards (1969a) bei Danaus und White u. Kankel (1978) bei Drosophila beschrieben haben. Wie bei Danaus sind auch bei Drosophila keinerlei getrennte Vorläuferzellen der Gliazellen außerhalb der optischen Anlagen zu beobachten, was auch für Drosophila den Schluß von Nordlander u. Edwards (1969a) bestätigt, daß sowohl Nerven- als auch Gliazellen aus der Proliferationstätigkeit der optischen Anlagen hervorgehen. Erst im Verlauf der Differenzierung der Ganglien zeigen die Gliazellen ein eigenständiges proliferatives Verhalten.

4.4. Die zeitliche Reihenfolge bei der Differenzierung der optischen Ganglien

Sowohl die Differenzierung der Ganglien als Einheit als auch die ihrer repetitiven Elemente geschieht in einer charakteristischen zeitlichen Abfolge. Die Analyse dieses zeitlichen Musters ist deswegen von Interesse, da in ihm kausale Zusammenhänge der Musterbildung zum Ausdruck kommen könnten.

4.4.1. Wachstumsrichtung und zeitliche Differenzierungsfolge der Ganglien

In der Entwicklung der optischen Ganglien greifen die Prozesse der Proliferation, der Differenzierung der Neurone und der Faserverbindungen zwischen den einzelnen Ganglien zeitlich ineinander. Für jedes Ganglion läßt sich eine anatomische Richtung angeben, in der eine kontinuierliche Folge von älteren zu jüngeren Teilen des Ganglions besteht.

Pflugfelder hat diesen zeitlich geordneten Prozeß zuerst bei Pentatoma und Culex beschrieben (Pflugfelder, 1936/37, 1937) und später bei Carausius morosus bestätigt (Pflugfelder, 1947). Seine Darstellungen lassen auch erkennen, wie diese Form des Wachstums zusammen mit der anatomischen Anordnung der Ganglien zur Zeit ihrer Entstehung zur Bildung der Faserkreuzungen zwischen den Ganglien führt. Meinertzhagen hat die Vorgänge, die zur Entstehung des äußeren Chiasma führen, in allen Einzelheiten dargestellt (Meinertzhagen, 1973, 1975).

Die ältesten, zuerst gebildeten Strukturen der verschiedenen Ganglien sind jeweils die, die mit dem hinteren Teil des Auges verbunden sind. Wie bei allen Insekten entwickelt sich auch bei Drosophila die Retina in einer Differenzierungsstufe, die die Augenanlage von hinten nach vorne überquert (Ready et al., 1976; Campos-Ortega u. Hofbauer, 1977). In derselben zeitlichen Abfolge wachsen die Axone der Rezeptorzellen der Retina durch den optischen Stiel in das larvale Gehirn, wo die optischen Ganglien im entsprechenden raum-zeitlichen Muster angelegt werden. In der Lamina entspricht der Richtung der zeitlichen Abfolge die anatomische Richtung von dorso-caudal nach ventral-anterior, in den übrigen Ganglien von medial nach lateral. In der zweidimensionalen Anordnung der Elemente jeden Teils des visuellen Systems, also der Ommatidien, der Cartridges, der Säulen der Medulla und der entsprechenden Einheiten des Lobula-Komplexes ist also eine Dimension, nämlich die, die der posterio-anterioren Achse der Retina gleichzusetzen ist, über einen weiten Zeitraum zeitlich gestaffelt. Möglicherweise kommt dazu noch eine weitere zeitliche Abfolge innerhalb der Elemente, die einer Vertikalreihe von Ommatidien in der Retina entsprechen (Bate, 1978); sie umfaßt dann jedoch nur einen sehr kurzen Zeitraum.

Die einzelnen Ganglien entwickeln sich, gemessen am lichtmikroskopischen Nachweis der Zellproliferation und der

Neuropilstrukturen, weder synchron noch in der zeitlichen Reihenfolge, in der sie durch Faserbündel miteinander verbunden werden. Als erstes Ganglion ist die Medulla im larvalen Gehirn zu identifizieren, ihr folgt der Lobula-Komplex und zuletzt erst beginnt die Bildung der Lamina. Dies ist dieselbe Reihenfolge, die auch in der Entwicklung der optischen Ganglien bei Danaus zum Ausdruck kommt, dort noch deutlicher, da die Entwicklungszeit länger ist und die zeitlichen Abstände dadurch größer sind (Nordlander u. Edwards, 1969a,b). Es gibt jedoch auch Arbeiten, in denen eine andere Reihenfolge in der Differenzierung der Ganglien beobachtet wurde. Bei Tenebrio (Bretschneider, 1914) und bei Calliphora (Giering, 1965) wurde der Lobula-Komplex als erstes Ganglion beschrieben, dem die Medulla und schließlich die Lamina folgt. Eine Differenzierung der Lamina vor der der Medulla und des Lobula-Komplexes findet nach Rösch (1913) bei verschiedenen Strepsipteren und nach Hanström (1926) bei Culex statt.

Die Entwicklung der Retina und der Lamina sind, zumindest zeitlich, völlig aufeinander abgestimmt. Sowie die Axone aus der Retina das Gehirn erreichen, differenzieren sich die Teile der Lamina, die mit diesen Axonen verschaltet werden. Für die Lamina und die Medulla ist eine solche zeitliche Abstimmung nicht offensichtlich. Sowohl die Proliferation als auch die Differenzierung der Medulla beginnt bereits zu einem Zeitpunkt, wenn die Entstehung der Lamina noch nicht begonnen hat. Zwar sind die ersten Zellen, die im Bereich der Medulla entstehen, Tangentialzellen, die sich nicht bestimmten Säulen zuordnen lassen, und die ersten sichtbaren Faserstrukturen der Medulla entsprechen noch nicht der Entstehung der ersten Säulen, aber auch die Zellkörper der Medullaneurone, die zu einzelnen Säulen gehören, scheinen früher gebildet zu werden als die Zellen der Cartridges, die später mit ihnen Verbindung aufnehmen. Dies läßt sich aus dem Proliferationsverlauf in der ersten Hälfte des dritten Larvenstadiums und vor allem aus der

Tatsache folgern, daß die Proliferation der Medullaneurone früher abgeschlossen ist als die der Laminazellen. Dagegen ist nicht sicher, ob dem zeitlichen Vorsprung in der Proliferation auch ein solcher der Differenzierung entspricht, ob es z.B. ein Differenzierungsstadium der Säulen in der Medulla zu einer Zeit gibt, wenn die dazugehörigen Eingänge aus der Lamina bzw. der Retina noch nicht vorhanden sind. Zwar kann angenommen werden, daß die Medullazellen früher mit der Bildung von Nervenfasern beginnen als die entsprechenden Ganglienzellen der Lamina, da solche Nervenfasern im Bereich der Medulla schon sehr früh in der Entwicklung sichtbar sind, und daß diese Fasern an der Bildung der lichtmikroskopisch sichtbaren Faserstrukturen beteiligt sind. Unklar bleibt dabei jedoch die Funktion der beiden unterscheidbaren Schichten der Medulla-Fasermasse. Die äußere Schicht zwischen den Bündeln aus der Lamina und dem Kortex der Medulla reicht ganz nach lateral bis zur äußeren Anlage; an ihrem Aufbau sind offensichtlich auch die Ganglienzellen der Medulla beteiligt, die gerade erst Nervenfasern gebildet haben. Diese Faserschicht kann jedoch nicht als eigentliche Vorstufe des Medullaneuropils gesehen werden, sie ist in späteren Entwicklungsstadien nicht mehr sichtbar. Die Struktur dieser äußeren Schicht geht bereits aus den Abbildungen bei Viallanes (1885) hervor, sie ist wohl auch angesprochen, wenn El Shatoury (1956) das Neuropil der Medulla im larvalen Gehirn bei Drosophila als zweischichtig beschreibt. Ob es sich bei dieser Struktur jedoch um eine Anhäufung von Nervenfasern der Medullazellen aus räumlichen Gründen handelt, die im Zusammenhang mit dem Wachstum nach der Proliferationsphase wieder aufgelöst wird, oder ob diese Faserstruktur eine Bedeutung als Differenzierungsstadium der Ganglienzellen besitzt, muß völlig offengelassen werden. Eine koordinierende Funktion zwischen den entsprechenden Elementen der Lamina und der Medulla, die man aus der Tatsache herleiten könnte, daß sich der laterale Wachstumsrand der äußeren Faserschicht in unmittel-

barem Kontakt mit der jüngsten Zone des Laminaneuropils befindet, muß völlig hypothetisch bleiben. Aus dem Proliferationsmuster der beiden Ganglien läßt sich keineswegs schließen, daß die jeweils neu auswachsenden Fasern aus der Medulla und Lamina, die sich in dieser Zone berühren, Säulen bzw. Cartridges angehören werden, die miteinander verknüpft sind. Im Gegensatz zur äußeren Faserschicht kann man die innere Schicht als das sich entwickelnde Neuropil der Medulla verstehen. Diese Schicht reicht jedoch nicht so weit nach lateral wie die äußere Schicht das tut. Es ist deshalb schwer festzustellen, wie weit die Differenzierung dieser Schicht, bezogen auf die Lamina, an ihrem lateralen Rand fortgeschritten ist, ob sie einen zeitlichen Vorsprung gegenüber der Lamina besitzt wie die Zellproliferation, oder ob sie synchron mit dem Einwachsen der Faserbündel aus der Lamina wächst. Für die Frage der Musterbildung, also für die Frage der korrekten Verbindungen zwischen Lamina und Medulla, ist die Frage der zeitlichen Verschiebung in der Entwicklung nicht von ausschlaggebender Bedeutung. Wenn die Anordnung der Verbindungen durch zeitliche Abfolge gesteuert wird, dann ist dafür vor allem die zeitliche Ordnung der einwachsenden Bündel aus der Lamina wichtig.

Es liegt nahe, aus der zeitlichen Ordnung beim Auswachsen der Axonbündel aus der Retina in das larvale Gehirn zu schließen, daß die Bündel für die jeweils nachfolgenden den Weg weisen könnten. Die Fasern eines Ommatidiums würden dann durch die vor ihnen ausgewachsenen Axone einer Horizontalreihe, also durch die Axone aus dem posterioren Nachbarommatidium, zum richtigen Ziel geleitet. Die Frage, wie die Bündel den richtigen Weg ins Gehirn finden, wird so auf die ersten Bündel aus den Ommatidien des hinteren Augenrandes konzentriert. Als Wegweiser für diese Fasern käme der larvale Nerv des optischen Stiels in Frage (Meinertzhagen, 1973, 1975; Bate, 1978). Aus den Arbeiten von Bolwig (1945/46) an Musca, Roberts (1971) an Calliphora, von Trujillo-Cenóz u. Melamed (1973) und von Melamed u. Trujillo-

Cenôz (1975) geht hervor, daß es sich bei diesem Nerv um einen larvalen Sehnerv handelt, der von einer Gruppe von lichtempfindlichen Rezeptorzellen im Bereich der Mundhaken nach dorsal führt, in die Peripodialmembran der Augenimaginalscheibe eintritt und durch den optischen Stiel die Verbindung mit der Gehirnhemisphäre herstellt. Bei Drosophila ist er bereits vorhanden, wenn die Larve aus dem Ei schlüpft; während der Larvalentwicklung nimmt die Zahl der Axone des Nerven nicht mehr zu (Trujillo-Cenôz u. Melamed, 1973). Nach dem Ende der Proliferationsphase in der Puppe konnte der Nerv nicht mehr beobachtet werden. Auch das deckt sich mit den Angaben von Trujillo-Cenôz u. Melamed (1973), die daraus auf eine Degeneration des Nerven in diesem Entwicklungsstadium schließen. Degenerierende Fasern wurden jedoch nicht beobachtet.

Der larvale Nerv des optischen Stiels bei Drosophila dürfte dem Stemmatalnerv von Insektenlarven mit Punktaugen homolog sein. Die Larven der Cyclorhapha besitzen keine äußeren Punktaugen, ein Paar Stemmata sind in das Körperinnere verlagert (Kästner, 1973). Dieser Stemmatalnerv wird bei einer ganzen Reihe von Insekten im Zusammenhang mit der Entwicklung der optischen Ganglien des imaginalen visuellen Systems beschrieben, so von Bretschneider (1914) bei Tenebrio, Bott (1928) bei Gyrinus, Umbach (1934) bei Ephestia, von Pflugfelder (1937) bei Culex und von Nordlander u. Edwards (1969b) bei Danaus. In der letztgenannten Arbeit wird eine Auffächerung des Stemmatalnervs zu der Zeit beschrieben, wenn die Retinaaxone in die Lamina einwachsen. Einen vergleichbaren Vorgang gibt es bei Drosophila nicht. Zwar wurde beobachtet, daß sich der Nerv im Gehirn in zwei oder drei kleinere Bündel aufspaltete, diese lagen jedoch immer nahe beieinander.

Bei Ephestia wurde untersucht, wie die Verbindung zwischen den larvalen Stemmata und dem Gehirn hergestellt wird (Busselmann, 1935). Es wurde gefunden, daß in dem Stadium

der Kontaktaufnahme zwischen den Ganglienzellen, deren Axone den Stemmatalnerv bilden, und dem Oberschlundganglion diese noch unmittelbar benachbart sind. Die Ganglienzellen entfernen sich erst in der weiteren Entwicklung vom Ganglion, nachdem die Verbindung durch den Nerv bereits hergestellt ist.

4.4.2. Die zeitliche Wachstumsfolge innerhalb einzelner Faserbündel

LoPresti et al. (1973) konnten bei Daphnia zeigen, daß beim Einwachsen der Axonbündel aus der Retina in die Lamina eine der Fasern eine Sonderstellung einnimmt. Sie besitzt einen zeitlichen Vorsprung und unterscheidet sich morphologisch von den restlichen Fasern des Bündels. Ihr kommt offensichtlich eine "führende" Rolle zu; die zeitliche Abfolge könnte Ausdruck eines Mechanismus sein, der die neuronale Verknüpfung in der Lamina steuert. Es stellt sich die Frage, ob das komplizierte Verschaltungsmuster in der Lamina der Dipteren durch eine ähnliche zeitliche Staffelung der Axone innerhalb der einzelnen Bündel gesteuert werden könnte.

Wenn die Axone eines Ommatidiums in einer zeitlichen Reihenfolge aus der Augenimaginalscheibe auswachsen, müßten zur Zeit der Retinadifferenzierung Bündel mit einem unvollständigen Satz von Axonen angeschnitten werden können. Bei Untersuchungen an Phaenicia wurden tatsächlich solche Bündel gefunden, die weniger als acht Retinaaxone enthielten (Trujillo-Cenóz u. Melamed, 1973; Melamed u. Trujillo-Cenóz, 1975). Bei Drosophila sind Axonbündel mit nur sieben Axonen nachweisbar, Bündel mit noch weniger Fasern wurden nur selten und nur in dem Bereich der Imaginalscheibe beobachtet, in dem das Auswachsen der Axone gerade erst beginnt. Weiter hinten in der Scheibe und im optischen Stiel sind die jeweils jüngsten Fasern zu größeren Bündeln zusammengefaßt, die deutlich mehr als acht Axone enthalten.

Diese Anordnung der Retinaaxone ließe sich am besten so interpretieren, daß die Fasern zu dem Zeitpunkt ihres Auswachsens aus der Imaginalscheibe nicht durch Gliazellen in identifizierbare Bündel aufgeteilt sind. Erst nachträglich werden die jeweils zusammengehörigen Axone eines Ommatidiums durch Gliazellen eingehüllt und aus dem größeren Faserverband herausgelöst. Dieser Prozeß scheint in zwei Stufen abzulaufen. Die Gliazellen trennen erst die Axone der einzelnen Horizontalreihen voneinander; es entsteht so im Bereich der jüngsten Fasern eine Reihe von großen Bündeln. Erst anschließend werden aus diesen Gruppierungen die Bündel der einzelnen Ommatidien abgetrennt. Wenn dies geschieht, enthalten die Bündel bereits acht oder mindestens sieben Axone. Wenn die Axone aus einem Ommatidium tatsächlich in einer zeitlichen Reihenfolge auswachsen würden, so würde dies durch den Mechanismus des nachträglichen Abtrennens durch die Gliazellen verdeckt werden. Die unvollständigen Bündel würden sich in dem Bereich befinden, in dem die Axone verschiedener Ommatidien noch nicht unterschieden werden können. Ein Argument für die Existenz unvollständiger Bündel ergibt sich aus der Tatsache, daß die großen Bündel mit den neu auswachsenden Axonen eine unregelmäßige Zahl von Fasern enthalten, die nicht einem Vielfachen von acht entspricht.

Die beschriebene Organisation der Retinafasern beim Auswachsen aus der Imaginalscheibe bringt es mit sich, daß die Rezeptoraxone nicht als isolierte Bündel in der Lamina ankommen, sondern beim Eintreffen in der Neuropilzone der Lamina noch direkten Kontakt mit den Fasern aus benachbarten Ommatidien besitzen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen dieses Stadiums zeigen, daß im Neuropilbereich dieser anatomische Kontakt nicht aufgegeben wird, daß also in der Entwicklung des Neuropils kein Stadium existiert, in dem die Vorstufen der Cartridges voneinander isoliert wären. Es spricht im Gegenteil vieles dafür, daß die enge anato-

mische Nachbarschaft der einwachsenden Fasern in die Entstehung des Verschaltungsmusters übergeht.

Im Gegensatz zu den Axonen aus einem Ommatidium, bei denen auf eine zeitliche Abfolge des Wachstums nur indirekt geschlossen werden kann, ist für die Monopolarzellen einer Cartridge leichter zu zeigen, daß sie in einer zeitlichen Reihenfolge differenzieren, zumindest was das Einwachsen der Zellausläufer in das Neuropil der Lamina anbelangt. Die ersten Bündel hinter der Wachstumsfront der Lamina enthalten durch den ganzen Kortex der Lamina hindurch acht Fasern, was nahelegt, daß es sich bei diesen Fasern nur um Retina-axone handelt. Die Monopolarzellen bilden demnach erst dann Nervenfasern, wenn die entsprechenden Retinaaxone bereits die Lamina erreicht haben, eine Beobachtung, die die von Meinertzhagen (1973) bestätigt. Erst mit zunehmendem Abstand von der vorderen Wachstumsfront der Lamina nimmt die Zahl der Profile in den Bündeln kontinuierlich zu, bezogen auf die Eintrittsstelle der Bündel in das Neuropil der Lamina. Die vollständige Zahl erreichen die Bündel mit 13 Axonen, den acht Retinaaxonen (R1-8) und den fünf Monopolarzellen (L1-5). Die zentrifugalen Elemente aus der Medulla spielen in diesem Bereich distal der entstehenden Cartridges keine Rolle. Da die ersten vollständigen Bündel am hinteren Rand der Lamina etwa zur Zeit der Pupariumbildung auftreten, kann man abschätzen, daß der Zeitraum vom Einwachsen der Retinafasern bis zur Vervollständigung des Bündels durch alle Monopolarzellen in der Größenordnung von 30 Std. liegen muß. Das Einwachsen der Monopolarzellausläufer in das Neuropil der Lamina muß im Übrigen nicht als ein zeitlich gestaffeltes Einsetzen der Zelldifferenzierung verstanden werden, sondern könnte ein Ausdruck der unterschiedlichen Entfernung der Zellkörper von der Neuropilzone widerspiegeln. Trotzdem könnte dadurch die unterschiedliche Ausdifferenzierung der einzelnen Monopolarzellen einer Cartridge gesteuert werden.

Auch für die Faserbündel, die die Cartridges der Lamina mit den Säulen der Medulla verbinden, geht aus den histologischen Präparaten hervor, daß die vollständige Anzahl von Fasern erst allmählich in der Entwicklung erreicht wird. Kurz nach der Pupariumbildung sind Bündel mit 3-4 Fasern bis hin zu etwa 10 Fasern zu beobachten. Möglicherweise gibt es auch ein Stadium mit nur einem oder zwei Axonen, das dann jedoch nicht als Bündel identifiziert wird. Die endgültige Zahl der Fasern eines Bündels ist mit mindestens 12 Axonen zu erwarten (Strausfeld u. Campos-Ortega, 1977): zwei Retinaaxonen (R7, R8), fünf Monopolarzellen der Lamina (L1-5), einem zentripetalen Element der Medulla (T) und vier zentrifugalen Elementen (CE, ce, Tan 1, Tan 2).¹ Diese Bündel scheinen im Gegensatz zu den Retinaaxonen während des

1) Die Monopolarzellen L1-5 sind identisch mit den Laminaneuronen vom Typ 1 und 2 bei Trujillo-Cenóz (1965). Eine anatomische Beschreibung der T-Zelle findet sich bei Trujillo-Cenóz u. Melamed (1970). Der Zellkörper dieser Zelle liegt innerhalb des Zellkortex der Medulla um das äußere Chiasma, die synaptischen Endigungen befinden sich in der Lamina und der Medulla. Die Endigungen in der Lamina sind als β -Fasern beschrieben (Trujillo-Cenóz, 1965; Campos-Ortega u. Strausfeld, 1973); die ursprünglich ebenfalls als Endigungen von Elementen aus der Medulla beschriebenen α -Fasern (Trujillo-Cenóz, 1965) erwiesen sich später als Profile der intrinsischen Amakrinzellen der Lamina (Campos-Ortega u. Strausfeld, 1973). Nomenklatorisch ist die T-Zelle identisch mit der Zelle T1 bei Strausfeld (1971, 1976). Die Zelle T1a, von der ursprünglich ebenfalls eine Projektion in die Lamina angenommen worden war, erwies sich als intrinsische Zelle der Medulla (Campos-Ortega u. Strausfeld, 1973; Strausfeld, 1976). Die Zellen CE und ce sind identisch mit den Zellen C2 und C3 (Strausfeld, 1971, 1976). Sie besitzen synaptische Endigungen in der Medulla und in der Lamina; ihre Zellkörper befinden sich in einer schmalen Zone zwischen dem hinteren Rand der Medulla und dem Kortex der Lobula plate (Braitenberg u. Strausfeld, 1973). Die Tangentialzellen Tan 1 und Tan 2 mit einem Einzugsbereich von bis zu 40 Cartridges bei Musca sind identisch mit den Zellen L tan 1 und L tan 2 bei Strausfeld (1976). Ihre Zellkörper befinden sich innerhalb des Medullakortex um das äußere Chiasma (Strausfeld, 1976).

Wachstums nicht mit den Nachbarbündeln in direktem Kontakt zu stehen, sondern von Anfang an getrennt angeordnet zu sein. Die trennenden Elemente sind dabei die Epithelialzellen, die in der Imago die Cartridges einhüllen werden (Trujillo-Cenóz, 1965; Boschek, 1971).

Die Faserbündel zwischen Medulla und Lobula-Komplex wurden nicht näher untersucht. Bezüglich der Anordnung während des Wachstums scheinen sie den Bündeln zwischen Lamina und Medulla zu gleichen.

4.5. Der Einfluß der Retina auf die Entwicklung der optischen Ganglien

Daß die Retina einen maßgeblichen Einfluß auf die Differenzierung und Musterbildung der optischen Ganglien ausübt, ist anhand einer Vielzahl von Mutanten zuletzt von Meyerowitz u. Kankel (1978) gezeigt worden. Im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit geht es nur um den Einfluß, der durch fehlende oder durch eine verringerte Anzahl von Retinaaxonen auf die Entwicklung der optischen Ganglien ausgeübt wird. Dieser Einfluß kommt im Zustand der adulten Ganglien und in den Entwicklungsprozessen im larvalen Gehirn zum Ausdruck.

4.5.1. Der Einfluß der Retina auf die Morphologie der adulten optischen Ganglien

Power (1943a) hat nachgewiesen, daß bei der Mutante eyeless (ey²), bei der die Augen entweder fehlen oder unterschiedlich stark verkleinert sind, die Größe des Auges zur Größe der einzelnen Ganglien in einem linearen Verhältnis steht. Die Auswirkung auf die verschiedenen Ganglien ist dabei unterschiedlich stark. Wenn die Retina völlig reduziert ist, fehlt die Lamina vollkommen, die Medulla ist um 85,4% verkleinert, die Lobula um 58,7% und die Lobula plate um 57,1%. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den qualitativen Untersuchungen von Richards u. Furrow (1925) und

den volumetrischen Messungen von Hinke (1961), beide ebenfalls an der Mutante eyeless. In allen Fällen hat die volle Reduktion des Komplexauges das völlige Fehlen der Lamina zur Folge, während die übrigen Ganglien zwar verkleinert, aber eindeutig vorhanden sind. Das Bild gleicht in dieser Hinsicht völlig dem, das von Meyerowitz u. Kankel (1978) und im Rahmen dieser Arbeit bei der Mutante sine oculis beobachtet wurde. Ein unterschiedliches Ergebnis wird von Schoeller (1964) beschrieben. Sie trennte bei Sarcophaga operativ den optischen Stiel durch, bevor die Retinaaxone in das Gehirn eingewachsen waren. Nach der Entwicklung zur Imago konnte sie überhaupt keine optischen Ganglien im Gehirn der Fliege finden.

Die Untersuchung von heterozygoten so/+-Fliegen, die nach Röntgenbestrahlung Läsionen im Auge aufweisen, macht es möglich, nicht nur den Einfluß der Größe der Retina, sondern auch den Einfluß der Lage der Läsion im Auge auf die Entwicklung der optischen Ganglien zu beobachten. Wenn die Übertragung des Musters der Ommatidien in eine entsprechende Anordnung der Cartridges in der Lamina bzw. der Säulen in der Medulla dadurch erfolgt, daß im Wachstum der Nervenfasern eine definierte Reihenfolge eingehalten wird, sollten Läsionen im Auge je nach ihrer Lage unterschiedliche Auswirkungen auf die Morphologie der optischen Ganglien zeigen. Eine Läsion am Vorderrand des Auges sollte dann in einer ebensolchen Lücke am Vorderrand der Lamina zum Ausdruck kommen, da an dieser Stelle zuerst das Einwachsen weiterer Fasern zum Stillstand kommt. Eine Läsion am hinteren Augenrand oder in der Mitte des Auges sollte jedoch nicht zu einer Läsion inmitten oder am hinteren Rand der Lamina führen, da die Fasern entsprechend der Reihenfolge ihrer Ankunft aufschließen sollten. Die der Läsion entsprechende Lücke würde so in den vorderen Bereich der Lamina verlagert. Die Ergebnisse aus den Untersuchungen scheinen diese Ansicht zu unterstützen. In keinem Fall wurde eine Lücke innerhalb des Ganglions gefunden. Daß in den Fällen zentral gelegener

Retinaläsionen die Anordnung der Cartridges von der Stelle an, auf die die Läsion abgebildet werden müßte, bis an den vorderen Rand der Lamina gestört ist, ist zu erwarten, da ja die zeitliche Ankunft der benachbarten Axonbündel innerhalb einer Vertikalreihe im Gegensatz zur Normalentwicklung unterschiedlich ist. Die Ergebnisse stehen also in Einklang mit den Befunden von Macagno (1977, 1978) bei Daphnia. Auch dort hat eine verringerte Anzahl von Ommatidien eine verkleinerte Lamina zur Folge, vor allem aber konnte gezeigt werden, daß, wenn einzelne Ommatidien durch Lasereinwirkung zerstört werden, nachwachsende Axone aus den sich später differenzierenden Ommatidien die entstehende Lücke auffüllen. In diesem Zusammenhang sei hingewiesen auf die Ergebnisse von Anderson (1978b) bei Schistocerca, die wie die hier vorgestellten Resultate die Hypothese stützen, daß das Muster der Retina durch die zeitliche Abfolge der auswachsenden Faserbündel und dadurch, daß jeweils die vorhergehenden Fasern den nachfolgenden als Wegweiser dienen, auf die Lamina übertragen wird.

Die vorgestellten Untersuchungen von Retinaläsionen und ihren Auswirkungen lassen noch viele Fragen offen. So wurde nicht geklärt, ob das Ausmaß und die genaue Form der Lücken in der Lamina den Läsionen in der Retina entsprechen. Dazu sind detaillierte quantitative Analysen notwendig. Besonders in der Medulla wurden auch bei großen Retinaläsionen meist keine erkennbaren Störungen oder Lücken gefunden. Es bleibt offen, ob das durch eine Umordnung der verminderten Anzahl von Säulen zu erklären ist oder ob mehr Säulen als Cartridge gebildet wurden.

4.5.2. Der Einfluß der Retina auf die frühe Entwicklung der optischen Ganglien

Die meisten Daten über den Einfluß der Retina auf die Entwicklung der optischen Ganglien stammen aus Untersuchungen an adulten Tieren, sie sagen also etwas aus über das Er-

gebnis der Entwicklung, nicht über den Ablauf der Entwicklung. Die Analyse des adulten Gehirns muß deshalb durch die Untersuchung der Entwicklungsvorgänge bei Mutanten oder nach chirurgischen Eingriffen ergänzt werden.

Bei der Mutante sine oculis ergibt sich in der Larvalentwicklung ein deutlicher Unterschied zwischen der Lamina und den übrigen optischen Ganglien, sowohl bezüglich der Proliferation der Ganglienzellen als auch bezüglich der frühen Differenzierung. Die Proliferation der Zellen der Medulla und der Zellen aus der inneren optischen Anlage erscheint völlig vergleichbar der des Wildtyps. Diese Feststellung wurde zwar nicht durch Zellzählungen abgesichert, aus dem histologischen Bild ergibt sich aber, daß keine größeren Unterschiede zu erwarten sind. Zu gleichen Ergebnissen kommt auch die Untersuchung von Hinke (1961); er findet bei der Mutante eyeless, daß sich die volumetrische Entwicklung der optischen Ganglien, abgesehen von der Lamina, in der Larvalzeit nicht von der des Wildtyps unterscheidet. Die Reduzierung von Medulla und Lobula-Komplex der Imago sind bei sine oculis und bei eyeless darauf zurückzuführen, daß in der Pupalentwicklung die Differenzierung der Ganglien nicht normal weiterläuft und Zellen degenerieren. Im Gegensatz dazu wird zu keinem Zeitpunkt der Larvalentwicklung eine Lamina gebildet. Bei sine oculis können keine Laminazellen außerhalb der äußeren optischen Anlage identifiziert werden, auch keine undifferenzierten Ganglienzellen. Alle Zellen, die eventuell gebildet werden, müssen unmittelbar danach degenerieren. Es handelt sich also hier um Zelltod, der nicht mit dem vergleichbar ist, der im Verlauf der Wildtyp-Entwicklung zu beobachten ist; die Zellen degenerieren nicht erst zu einem Zeitpunkt, der von der anatomischen Lage und von der Zellmorphologie her der beginnenden Differenzierungsphase der Ganglienzellen entsprechen dürfte, wie es aus den Ergebnissen an Drosophila (Wildtyp) und an Danaus hervorgeht (Nordlander u. Edwards, 1968).

Eine Schwierigkeit liegt nun darin, zu entscheiden, inwieweit in diesen an Mutanten gewonnenen Ergebnissen der Einfluß der ausbleibenden Retinaaxone auf die Entwicklung der optischen Ganglien zum Ausdruck kommt oder ob es sich dabei um eine direkte Wirkung des mutanten Allels auf die optischen Ganglien handelt. Versuche mit chirurgischen Eingriffen, die diese Frage klären könnten, wurden bisher für Drosophila oder nah verwandte Dipterengattungen nicht beschrieben. Es muß deshalb auf Ergebnisse aus Versuchen an Lepidopteren und Hemimetabolen zurückgegriffen werden.

Am eingehendsten haben sich in neuerer Zeit Mouze (1974, 1978) bei Aeschna und Anderson (1978a,b) bei Schistocerca mit der Einwirkung der Retina auf den Entwicklungsprozeß der optischen Ganglien befaßt. In beiden Fällen wurde das Einwachsen der Retinaaxone zu einem Zeitpunkt, zu dem ein Teil der Retina bereits ausdifferenziert und mit den optischen Ganglien verbunden war, unterbrochen und die Auswirkung dieser Unterbrechung auf die weitere Proliferation und Differenzierung der optischen Ganglien untersucht. Anderson findet, daß nach der Unterbrechung der Innervierung durch die Retina die Proliferation der Ganglienzellen sowohl im Bereich der Medulla als auch in dem der Lamina weiterhin abläuft. Die Zellen der Medulla bleiben erhalten, die der Lamina degenerieren kurz nach ihrer Entstehung. Das steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Mouze, der ebenfalls ein Fortlaufen der Proliferation und im Fall der Lamina eine anschließende Degeneration der Ganglienzellen beobachtet. Mouze (1978) hat auch durch einen chirurgischen Eingriff eine künstliche Vergrößerung der Retina bewirkt und findet in diesem Fall wie beim vorigen Experiment eine unveränderte Proliferation der Ganglienzellen, darüber hinaus jedoch auch eine Vergrößerung der äußeren optischen Anlage, also eine Erhöhung der Anzahl der Neuroblasten. Hier würde also die Retina einen Einfluß auf die Proliferations-tätigkeit der optischen Anlage ausüben, und zwar auf einer

frühen Stufe und nicht erst bei der Teilung der Neuroblasten in Gangliennutterzellen und schließlich in Ganglienzellen.

Hinweise auf die Entwicklung der optischen Ganglien unter Ausschluß einer Innervierung durch die Retina ergeben sich auch aus Experimenten, in denen die Gehirnanlagen z.B. in das Abdomen von Wirtstieren implantiert wurden, in denen sie sich isoliert weiterentwickeln. Kopeč (1922) fand bei solchen Implantaten von Lymantria dispar, daß sich das äußere Chiasma und die "external layers", worunter wohl die Lamina zu verstehen ist, nicht bilden, die übrigen Ganglien jedoch vorhanden sind. Schrader (1938) hat die Anlagen der optischen Ganglien von Ephestia implantiert, er fand in den weiterentwickelten Implantaten neben den übrigen Ganglien auch eine Andeutung der Lamina, die er als "kleinen, strukturenlosen Glomerulenkugeln" (S. 78) beschreibt. Dies würde mit der Feststellung von Nordlander u. Edwards (1969b) übereinstimmen, daß die Ganglienzellen und auch erste Faserstrukturen der Lamina bei Danaus bereits zu einem Zeitpunkt der Entwicklung sichtbar sind, zu dem die Differenzierung der Augenimaginalscheibe und das Auswachsen der Rezeptorzellaxone noch nicht begonnen haben. Eine ähnliche Beobachtung machte Pflugfelder (1936/37) bei einigen Cocciden, auch hier differenziert sich die Lamina früher als die Retina. Aufschlußreich sind die Implantationsexperimente, die Pflugfelder (1947) bei Carausius morosus durchgeführt hat und die zeigen, daß der Zeitpunkt der Implantation von ausschlaggebender Bedeutung für das Ergebnis des Versuches ist. Bei Implantationen vor dem Eintreffen der ersten Axone aus der Retina in der Lamina findet er in den Implantaten keine Lamina, wohl aber umfangreiche Reste der übrigen Ganglien. Bei Implantationen nach der Innervierung durch die ersten Rezeptorzellaxone beschreibt Pflugfelder eine "bis zu einem gewissen Grade autonome" Entwicklung, die zur Bildung von "Zellhaufen" offensichtlich undifferenzierter Ganglienzellen führt (S. 382).

Aus den veröffentlichten Ergebnissen geht hervor, daß die Ganglienzellen von Medulla und Lobula-Komplex auch dann gebildet werden und mit der Differenzierung beginnen, wenn eine Innervierung der optischen Ganglien durch die Retina ausgeschlossen ist. Das entspricht voll den Verhältnissen, die bei der Mutante sine oculis gefunden wurden. Die Innervierung dieser Ganglien durch zentrifugale Elemente aus dem übrigen Nervensystem könnte dabei eine Rolle spielen. Sie dürfte jedoch für die erste Phase der Ganglienzelldifferenzierung, das Auswachsen der Nervenfasern, nicht von Bedeutung sein. In dieser Phase haben die Zellen keinen Kontakt zu den Neuropilzonen und damit zu eventuellen zentrifugalen Fasern. Die Ganglienzellen der Lamina scheinen sich bei verschiedenen Insekten unterschiedlich zu verhalten. In einigen Fällen degenerieren die Zellen ohne Innervierung aus der Retina, in anderen Fällen scheinen sie bis zu einem gewissen Grad zur Differenzierung befähigt zu sein, ähnlich wie die Zellen der übrigen Ganglien. Bei der Mutante sine oculis liegt ein extremer Fall vor, da es nicht einmal zu einer Ansammlung undifferenzierter und schließlich degenerierender Zellen kommt, sondern zu einer Degeneration von Zellen unmittelbar nach ihrer Entstehung oder sogar zu einer eingeschränkten Proliferation. Es kann dies eine Wirkung des mutanten Allels sein, es kann darin eine Eigenart der Species Drosophila zum Ausdruck kommen, es wäre sogar denkbar, daß es sich hier um ein Ergebnis handelt, das typisch für das völlige Ausbleiben einer retinalen Innervierung ist, das aber nicht bestätigt würde, wenn die Innervierung nach der Ankunft der ersten Axone unterbrochen würde. Eine Unterscheidung zwischen diesen denkbaren Möglichkeiten ist wohl durch die Untersuchung der homozygoten Mutante nicht möglich. Dazu müßten Tiere untersucht werden, bei denen durch chirurgische Eingriffe die Innervierung durch die Retina verhindert wird, oder Mosaiktiere, bei denen zwar die Augenimaginalscheibe den homozygot mutanten Genotyp aufweist, nicht jedoch die Gehirnanlage mit den optischen Ganglien.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die optischen Ganglien von Drosophila melanogaster gehen aus zwei epithelialen Aggregaten von Neuroblasten hervor, der äußeren und der inneren optischen Anlage.

Beginnend mit dem Ende des zweiten Larvenstadiums bilden sich an den Rändern der Anlagen Proliferationszonen. In diesen Zonen gehen aus den Neuroblasten durch eine Folge von Zellteilungen die Zellen der optischen Ganglien hervor. Die Zellen aus der äußeren optischen Anlage bilden die Medulla und die Lamina, aus der inneren optischen Anlage werden die Zellen von Lobula und Lobula plate, sowie Ganglienzellen, die zentrifugal bis in die Lamina projizieren, gebildet.

Die Zahl der Neuroblasten nimmt während der Larvalentwicklung bis gegen Ende des dritten Larvenstadiums stetig zu, von da an sinkt die Anzahl der Neuroblasten wieder ab bis etwa einen Tag nach der Pupariumbildung die optischen Anlagen völlig aufgelöst sind.

Die Proliferation der optischen Ganglien beginnt zeitlich gestaffelt in der Reihenfolge Medulla, Lobula und Lobula plate, Lamina. Im Zusammenhang mit der Auflösung der optischen Anlagen findet auch die Proliferation der Ganglienzellen ihren Abschluß.

Die Ganglienmutterzellen gehen zumindest teilweise aus äqualen Teilungen von Neuroblasten in zwei Ganglienmutterzellen hervor. Zumindest für die Proliferationszone der Medulla ist eine zweite Generation von Ganglienmutterzellen wahrscheinlich.

Das Proliferationsmuster der optischen Anlagen hat zur Folge, daß die Zellen eines jeden Ganglions nach ihrer Entstehungszeit angeordnet sind. Die zuerst gebildeten Zellen gehören jeweils zu dem Teil eines Ganglions, das mit dem hinteren Bereich der Retina verschaltet ist.

Im Zusammenhang mit der Auflösung der Proliferationszonen und mit der beginnenden Differenzierung der Ganglien tritt Zelltod auf.

Wie die Proliferation erfolgt auch die Differenzierung der optischen Ganglien in einer entsprechenden zeitlichen Abfolge. Es gibt Argumente dafür, daß auch die Differenzierung der Faserbündel, die die Untereinheiten der Retina und der optischen Ganglien miteinander verbinden, zeitlich gestaffelt erfolgt.

Die Entwicklung der optischen Ganglien bei der Mutante sine oculis (so) und die Auswirkungen von Retinaläsionen bei so/+-Tieren nach Röntgenbestrahlung auf die optischen Ganglien werden beschrieben und im Hinblick auf Folgerungen für die Normalentwicklung diskutiert.

6. LITERATUR

- Anderson, H.: Postembryonic development of the visual system of the locust, Schistocerca gregaria. I. Patterns of growth and developmental interactions in the retina and optic lobe. J. Embryol. exp. Morph. 45, 55-83 (1978a)
- Anderson, H.: Postembryonic development of the visual system of the locust, Schistocerca gregaria. II. An experimental investigation of the formation of the retina-lamina projection. J. Embryol. exp. Morph. 46, 147-170 (1978b)
- Bate, C.M.: Development of sensory systems in arthropods. In: Handbook of sensory physiology, Bd. 9: Development of sensory systems (Hrsg. M. Jacobson). Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1978
- Bauer, V.: Zur innern Metamorphose des Centralnervensystems der Insecten. Zool. Jb., Abt. Anat. Ontog. Tiere 20, 123-152 (1904)
- Berger, E.: Untersuchungen über den Bau des Gehirns und der Retina der Arthropoden. Arbeiten aus dem Zool. Inst. der Univ. Wien und der Zool. Station in Triest 1, 173-220 (1878)
- Bolwig, N.: Senses and sense organs of the anterior end of the house fly larvae. Vidensk. fra Medd. Dansk Naturh. Foren. 109, 81-217 (1945/46)
- Bootsma, D., Budke, L., Vos, O.: Studies on synchronous division of tissue culture cells initiated by excess thymidine. Exp. Cell Res. 33, 301-309 (1964)
- Boschek, C.B.: On the fine structure of the peripheral retina and lamina ganglionaris of the fly, Musca domestica. Z. Zellforsch. 118, 369-409 (1971)
- Bott, H.R.: Beiträge zur Kenntnis von Gyrinus natator substriatus Steph.. Z. Morphol. Ökol. Tiere 10, 207-306 (1928)
- Braitenberg, V.: Patterns of projection in the visual system of the fly. I. Retina-lamina projections. Exp. Brain Res. 3, 271-298 (1967)
- Braitenberg, V.: Ordnung und Orientierung der Elemente im Sehsystem der Fliege. Kybernetik 7, 235-242 (1970)
- Braitenberg, V., Strausfeld, N.J.: Principles of the mosaic organisation in the visual system's neuropil of Musca domestica L.. In: Handbook of Sensory Physiology, Bd. 7/3A (Hrsg. R. Jung). Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1973

- Bretschneider, F.: Über die Gehirne der Küchenschabe und des Mehlkäfers. Jena. Z. Naturwiss. 52 (N.F. 45), 269-362 (1914)
- Bussellmann, A.: Bau und Entwicklung der Raupenocellen der Mehlmotte Ephestia kühniella Zeller. Z. Morphol. Ökol. Tiere 29, 218-228 (1935)
- Cajal, S.R., Sánchez, D.: Contribución al conocimiento de los centros nerviosos de los insectos. Parte I. Retina y centros ópticos. Trab. Lab. Invest. Biol. Madrid 13, 1-167 (1915)
- Campos-Ortega, J.A., Hofbauer, A.: Cell clones and pattern formation: On the lineage of photoreceptor cells in the compound eye of Drosophila. Wilhelm Roux's Archives 181, 227-245 (1977)
- Campos-Ortega, J.A., Jürgens, G., Hofbauer, A.: Clonal segregation and positional information in late ommatidial development in Drosophila. Nature 274, 584-586 (1978)
- Campos-Ortega, J.A., Jürgens, G., Hofbauer, A.: Cell clones and pattern formation: Studies on sevenless, a mutant of Drosophila melanogaster. Wilhelm Roux's Archives 186, 27-50 (1979)
- Campos-Ortega, J.A., Strausfeld, N.J.: Synaptic connections of intrinsic cells and basket arborisations in the external plexiform layer of the fly's eye. Brain Res. 59, 119-136 (1973)
- Corneli, W.: Von dem Aufbau des Sehorgans der Blattwespenlarven und der Entwicklung des Netzauges. Zool. Jb., Abt. Anat. Ontog. Tiere 46, 573-605 (1924)
- Gieryng, R.: Veränderungen der histologischen Struktur des Gehirns von Calliphora vomitoria (L). (Diptera) während der postembryonalen Entwicklung. Z. wiss. Zool. 171, 80-96 (1965)
- Grabenhorst, A.: Die mit der Ausbildung des Frontauges zusammenhängenden postembryonalen Entwicklungsvorgänge im Lobus opticus einiger Ephemeridenmännchen. Z. Morphol. Ökol. Tiere 18, 430-473 (1930)
- Hanson, Th.E.: Neurogenesis in the eye and optic tracts of Drosophila. An. Rep. Div. Biol. Cal. Inst. Technol. 41 (1972)
- Hanström, B.: Eine genetische Studie über die Augen und Sehzentren von Turbellarien, Anneliden und Arthropoden (Trilobiten, Myriapoden, Crustaceen und Insekten). Stockholm: 1925
- Hertweck, H.: Anatomie und Variabilität des Nervensystems und der Sinnesorgane von Drosophila melanogaster (Meigen). Z. wiss. Zool. 139, 559-663 (1931)

- Heymons, R.: Die Embryonalentwicklung von Dermapteren und Orthopteren unter besonderer Berücksichtigung der Keimblätterbildung. Jena: Fischer 1895
- Hinke, W.: Das relative postembryonale Wachstum der Hirnteile von Culex pipiens, Drosophila melanogaster und Drosophila-Mutanten. Z. Morphol. Ökol. Tiere 50, 81-118 (1961)
- Hofbauer, A., Campos-Ortega, J.A.: Cell clones and pattern formation: Genetic eye mosaics in Drosophila melanogaster. Wilhelm Roux's Archives 179, 275-289 (1976)
- Hunt, R.K.: The cell cycle, cell lineage, and neuronal specificity. In: Cell cycle and cell differentiation (Hrsg. J. Reinert, H. Holtzer). Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1975
- Kaestner, A.: Lehrbuch der Speziellen Zoologie, Bd. I 38. Stuttgart: Fischer 1973
- Kankel, D.R., Ferrús, A., Garen, S.H., Harte, P.J., Lewis, P.E.: The development and morphology of the nervous system. In: The genetics and biology of Drosophila, Bd. 2d (Hrsg. M. Ashburner, T.R.f. Wright). London, New York, San Francisco: Academic Press, im Druck (1979)
- Kirschfeld, K.: Die Projektion der optischen Umwelt auf das Raster der Rhabdomere im Komplexauge von Musca. Exp. Brain Res. 3, 248-270 (1967)
- Kopeč, S.: Mutual relationship in the development of the brain and eyes of Lepidoptera. J. exp. Zool. 36, 459-468 (1922)
- Lindsley, D.L., Grell, E.H.: Genetic variations of Drosophila melanogaster. Carnegie Inst. Wash. Publ. 627 (1968)
- Löbbecke, E.-A.: Autoradiographische Bestimmungen der DNS-Synthese-Dauer von Zellen der Flügelimaginalanlage von Ephestia kühniella Z.. Wilhelm Roux' Archiv 162, 1-18 (1969)
- LoPresti, V., Macagno, E.R., Levinthal, C.: Structure and development of neuronal connections in isogenic organisms: The development of the optic lamina of Daphnia. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70, 433-437 (1973)
- LoPresti, V., Macagno, E.R., Levinthal, C.: Structure and development of neuronal connections in isogenic organisms: Transient gap junctions between growing optic axons and lamina neuroblasts. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 1098-1102 (1974)
- Macagno, E.R.: Abnormal synaptic connectivity following UV-induced cell death during Daphnia development. In: Cell and tissue interactions (Hrsg. J.W. Lash, M.M. Burger). New York: Raven Press 1977

- Macagno, E.R.: A mechanism for the formation of synaptic projections in the arthropod visual system. *Maschinen-schr. Manuskript* (1978)
- Malzacher, P.: Die Embryogenese des Gehirns paurometaboler Insekten. Untersuchungen an Carausius morosus und Periplaneta americana. *Z. Morphol. Ökol. Tiere* 62, 103-161 (1968)
- Marrable, A.W.: The counting of cells and nuclei in micro-tome sections. *Quart. J. micr. Sci.* 103, 331-347 (1962)
- Meinertzhagen, I.A.: Development of the compound eye and optic lobe of insects. In: *Developmental neurobiology of arthropods* (Hrsg. D. Young). London: Cambridge University Press 1973
- Meinertzhagen, I.A.: The development of neuronal connection patterns in the visual systems of insects. In: *Cell patterning*. Ciba Foundation Symposium 29. Amsterdam, Oxford, New York: Associated Scientific Publishers 1975
- Meinertzhagen, I.A.: Development of neuronal circuitry in the insect optic lobe. In: *Approaches to the cell biology of neurons* (Hrsg. W.M. Cowan, J.A. Ferrendelli). Society for Neuroscience Symposia, Bd. 2. Bethesda, Maryland: Society for Neuroscience 1978
- Melamed, J., Trujillo-Cenóz, O.: The fine structure of the eye imaginal disks in muscoid flies. *J. Ultrastructure Res.* 51, 79-93 (1975)
- Meyerowitz, E.M., Kankel, D.R.: A genetic analysis of visual system development in Drosophila melanogaster. *Dev. Biol.* 62, 112-142 (1978)
- Mouze, M.: Interactions de l'oeil et du lobe optique au cours de la croissance postembryonnaire des Insectes odonates. *J. Embryol. exp. Morph.* 31, 377-407 (1974)
- Mouze, M.: Rôle des fibres post-rétiniennes dans la croissance du lobe optique de la larve d'Aeshna cyanea Müll. (Insecte Odonate). *Wilhelm Roux's Archiv* 184, 325-350 (1978)
- Nordlander, R.H., Edwards, J.S.: Morphological cell death in the post-embryonic development of the insect optic lobes. *Nature* 218, 780-781 (1968)
- Nordlander, R.H., Edwards, J.S.: Postembryonic brain development in the monarch butterfly, Danaus plexippus, L. I. Cellular events during brain morphogenesis. *Wilhelm Roux' Archiv* 162, 197-217 (1969a)
- Nordlander, R.H., Edwards, J.S.: Postembryonic brain development in the monarch butterfly, Danaus plexippus, L. II. The optic lobes. *Wilhelm Roux' Archiv* 163, 197-220 (1969b)

- Panov, A.A.: The structure of the insect brain at successive stages of postembryonic development. III. Optic lobes. Entomological Review 39, 55-68 (1960)
- Pflugfelder, O.: Vergleichend-anatomische, experimentelle und embryologische Untersuchungen über das Nervensystem und die Sinnesorgane der Rhynchoten Zoologica 347. Stuttgart: 1936/37
- Pflugfelder, O.: Die Entwicklung der optischen Ganglien von Culex pipiens. Zool. Anzeiger 117, 31-36 (1937)
- Pflugfelder, O.: Die Entwicklung embryonaler Teile von Carausius (Dixippus) morosus in der Kopfkapsel von Larven und Imagines. Biol. Zb. 66, 372-387 (1947)
- Poulson, D.F.: Histogenesis, organogenesis, and differentiation in the embryo of Drosophila melanogaster Meigen. In: Biology of Drosophila (Hrsg. M. Demerec). New York, London: Hafner Publ. Comp. 1965
- Power, M.E.: The effect of reduction in numbers of ommatidia upon the brain of Drosophila melanogaster. J. Exp. Zool. 94, 33-66 (1943a)
- Power, M.E.: The brain of Drosophila melanogaster. J. Morph. 72, 517-559 (1943b)
- Ransom, R.: The time of action of three genes affecting Drosophila eye morphogenesis. J. Embryol. exp. Morph. im Druck (1979)
- Ready, D.F., Hanson, T.E., Benzer, S.: Development of the Drosophila retina, a neurocrystalline lattice. Dev. Biol. 53, 217-240 (1976)
- Richards, M.H., Furrow, E.Y.: The eye and optic tract in normal and "eyeless" Drosophila. Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole 48, 243-258 (1925)
- Roberts, M.J.: The structure of the mouthparts of some calypterate dipteran larvae in relation to their feeding habits. Acta Zool. (Stockholm) 52, 171-188 (1971)
- Rösch, P.: Beiträge zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte der Strepsipteren. Jena. Z. Naturwiss. 50 (N.F. 43), 97-146 (1913)
- Sánchez y Sánchez, D.: Sobre el desarrollo de los elementos nerviosos en la retina del Pieris brassicae, L., I-IV. Trab. Lab. Invest. Biol. Madrid 16, 213-278 (1918)
- Sánchez y Sánchez, D.: Sobre el desarrollo de los elementos nerviosos en la retina del Pieris brassicae, L., V-VI. Trab. Lab. Invest. Biol. Madrid 17, 1-63 (1919a)
- Sánchez y Sánchez, D.: Sobre el desarrollo de los elementos nerviosos en la retina del Pieris brassicae, L., VII-IX. Trab. Lab. Invest. Biol. Madrid 17, 117-180 (1919b)

- Schoeller, J.: Recherches descriptives et expérimentales sur la céphalogenèse de Calliphora erythrocephala (Meigen), au cours des développements embryonnaire et postembryonnaire. Archs Zool. exp. gen. 103, 1-216 (1964)
- Schrader, K.: Untersuchungen über die Normalentwicklung des Gehirns und Gehirnstransplantationen bei der Mehlmotte Ephestia kühniella Zeller nebst einigen Bemerkungen über das Corpus allatum. Biol. Zb. 58, 52-90 (1938)
- Shatoury, H.H. El: Differentiation and metamorphosis of the imaginal optic glomeruli in Drosophila. J. Embryol. exp. Morph. 4, 240-247 (1956)
- Strausfeld, N.J.: The organisation of the insect visual system (light microscopy). II. The projection of fibres across the first optic chiasma. Z. Zellforsch. 121, 442-454 (1971)
- Strausfeld, N.J.: Atlas of an insect brain. Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1976
- Strausfeld, N.J., Campos-Ortega, J.A.: Vision in insects: Pathways possibly underlying neural adaptation and lateral inhibition. Science 195, 894-897 (1977)
- Trujillo-Cenóz, O.: Some aspects of the structural organization of the intermediate retina of Dipterans. J. Ultrastructure Res. 13, 1-33 (1965)
- Trujillo-Cenóz, O., Melamed, J.: Light and electronmicroscope study of one of the systems of centrifugal fibres found in the lamina of muscoid flies. Z. Zellforsch. 110, 336-349 (1970)
- Trujillo-Cenóz, O., Melamed, J.: The development of the retina-lamina complex in muscoid flies. J. Ultrastructure Res. 42, 554-581 (1973)
- Umbach, W.: Entwicklung und Bau des Komplexauges der Mehlmotte Ephestia kühniella Zeller nebst einigen Bemerkungen über die Entstehung der optischen Ganglien. Z. Morphol. ökol. Tiere 28, 561-594 (1934)
- Viallanes, M.H.: Recherches sur l'histologie des insectes et sur les phénomènes histologiques qui accompagnent le développement post-embryonnaire de ces animaux. Ann. Sc. Nat. Sér. 6 (Zool.) 14, Art. 1, 1-348 (1882)
- Viallanes, M.H.: Études histologiques et organologiques sur les centres nerveux et les organes des sens des animaux articulés. 3e Mémoire. Le ganglion optique de quelques larves de Diptères (Musca, Eristalis, Stratiomys). Ann. Sc. Nat. Sér. 6 (Zool.) 19, Art. 4, 1-34 (1885)
- Wheeler, M.W.: A contribution to insect embryology. J. Morph. 8, 1-160 (1893)

White, K., Kankel, D.R.: Patterns of cell division and cell movement in the formation of the imaginal nervous system in Drosophila melanogaster. Dev. Biol. 65, 296-321 (1978)

Wilderemuth, H.: Autoradiographische Untersuchungen zum Vermehrungsmuster der Zellen in proliferierenden Rüsselprimordien von Drosophila melanogaster. Dev. Biol. 18, 1-13 (1968)

Lebenslauf

9.9.1947 geboren in Eggenfelden
Eltern: Alois Hofbauer, Landwirt
Franziska Hofbauer, geb. Straßer

1953-1957 Besuch der Volksschule in Eggenfelden

1957-1966 Besuch des humanistischen Albertus-Magnus-Gymnasiums
in Regensburg

WS66-SS67 Studium der kath. Theologie an der Phil.-Theol. Hochschule
in Regensburg

WS67-SS68 Studium der kath. Theologie an der Universität
Regensburg

WS68-WS72 Studium der kath. Theologie an der Universität
Freiburg i.Br.

WS69-SS75 Studium der Biologie an der Universität Freiburg i.Br.

15.11.1972 Abschluß des Theologiestudiums mit der Diplomprüfung

8.7.1975 Abschluß des Biologiestudiums mit der Diplomprüfung

1976-1979 Anfertigung der Dissertation



